

**EKSPLORASI BAKTERI RHIZOSFER DARI TANAH
TERCEMAR MINYAK BUMI DI SEKITAR SUMUR MINYAK
KECAMATAN TUNGKAL ILIR YANG BERPOTENSI
MENDEGRADASI SENYAWA HIDROKARBON**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya

Oleh :

NYIMAS LUTHPIAH

08041382025081



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2024**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Makalah Seminar : Eksplorasi Bakteri Rhizosfer dari Tanah Tercemar
Minyak Bumi di sekitar Sumur Minyak Kecamatan
Tungkal Ilir yang Berpotensi Mendegradasi Senyawa
Hidrokarbon

Nama Mahasiswa : Nyimas Luthpiah

NIM : 08041382025081

Jurusan : Biologi

Telah disidangkan pada tanggal 10 Juli 2024

Indralaya, Juli 2024

Pembimbing

1. Dwi Hardestyariki, S.Si., M.Si.
NIP. 198812112019032012

()

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Seminar : Eksplorasi Bakteri Rhizosfer dari Tanah Tercemar Minyak Bumi di sekitar Sumur Minyak Kecamatan Tungkal Ilir yang Berpotensi Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon

Nama Mahasiswa : Nyimas Luthpiah

NIM : 08041382025081

Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya pada Juli 2024 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, Juli 2024

Pembimbing

1. Dwi Hardestyariki, S.Si., M.Si.
NIP. 198812112019032012

(.....)

Pembahas

1. Dr. Marieska Verawaty, M.Si.
NIP. 19750427200122001
2. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si.
NIP. 197504272000122001

(.....)

(.....)

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sriwijaya



Prof. Dr. Arum Setiawan, M.Si.

NIP. 197211221998031001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama Mahasiswa : Nyimas Luthpiah

NIM : 08041382025081

Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (SI) dar Univeritas Sriwijaya maupun perguruan lain.

Semua informasi yangdimuat dalam skrpisi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Juli 2024

Penulis,



Nyimas Luthpiah

NIM. 08041382025081

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNIT KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nyimas Luthpiah
NIM : 08041382025081
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Hak bebas royalti non-eksklusif (*non-exclusively royalty-free right*)” atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Eksplorasi Bakteri Rhizosfer dari Tanah Tercemar Minyak Bumi di Sekitar Sumur Minyak Kecamatan Tungkal Ilir yang Berpotensi Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon” Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya

Indralaya, Juli 2024
Penulis,



Nyimas Luthpiah
NIM. 08041382025081

HALAMAN PERSEMBAHAN

MOTTO

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”.

(Q.S Al-Baqarah : 286).

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”.

(Q.S Al-Insyirah : 6).

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

- ❖ Allah SWT. atas Segala Limpahan Rahmat, Nikmat dan Karunia-Nya
- ❖ Rasulullah Muhammad SAW. Sang Suri Tauladan bagi Setiap Insan
- ❖ Kedua Orang Tuaku
- ❖ Dosen Pembimbingku
- ❖ Semua Orang yang Terlibat dalam Prosesku
- ❖ Almamaterku (Universitas Sriwijaya)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan nikmat-Nya, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Eksplorasi Bakteri Rhizosfer dari Tanah Tercemar Minyak Bumi di Sekitar Sumur Minyak Kecamatan Tungkal Ilir yang Berpotensi Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon”** sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik sebab adanya bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing tugas akhir Ibu Dwi Hardestyariki, S.Si., M.Si. atas bimbingan, arahan, saran, nasehat, dan kesabarannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
2. Bapak Prof. Dr. Arum Setiawan, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
3. Bapak Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan dan semangat kepada penulis dari awal perkuliahan hingga semester akhir.
4. Ibu Dr. Marieska Verawaty, M.Si. dan Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M.Si., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyelesaian skripsi ini.

5. Seluruh dosen dan staf administrasi Jurusan Biologi yang selalu memberikan ilmu, bimbingan dan bantuan kepada penulis.
6. Ibu Rosmania, ST selaku Analis Laboratorium Mikrobiologi dan Kak Agus Wahyudi, S.Si selaku Analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dalam melakukan penelitian.
7. Orang tuaku tercinta, Bapak Kemas Taufik dan Ibu Ateni, kakak-kakakku yang selalu aku banggakan Kemas Nopriansyah, Kemas Nizar Zulmi, dan Esti Kanti Pertiwi, serta keponakan yang paling ku sayangi Nyimas Zahira Ghania. Terima kasih atas doa, kasih sayang, dukungan kepada penulis selama proses menempuh perkuliahan hingga saat ini. Terima kasih sudah menjadi salah satu alasan penulis agar tetap kuat dan hidup hingga saat ini.
8. Sepupuku tersayang, Nyimas Rinda Wahyuni, Kemas Yahya, Kemas Ishak, Rahmawati, Rahmiati, Nyayu Putri Nurhaliza, Nabila, Habiba, Amel, Imel dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan perhatian, dukungan, dan mendo'akan yang terbaik untuk penulis.
9. Putri Khairunisa selaku rekan satu topik penelitian yang selalu menemani dan membantu penulis selama penelitian.
10. Sahabatku Hanum, Analisa, Yukie, Heliza, dan teman-teman seperjuangan *Barudak Tantrum* (Rindang, Tiara, Deva, Nabiti, Sabril, dan Ilham), teman-teman *Gazebo Garis Keras*, serta Mediya, Ken, dan Aisyah yang telah berbagi canda tawa, memberikan kekuatan, dukungan dan nasihat selama penulis berada dalam proses penelitian tugas akhir.

11. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi dan seluruh rekan seperjuangan Biologi angkatan 2020 yang telah memberikan dukungan selama penulis melakukan penelitian. Terima kasih atas cerita serunya selama penelitian di laboratorium.
12. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah berjasa kepada penulis.

Penulis berharap semoga skripsi ini nantinya dapat menjadi referensi bagi seluruh civitas akademik dan masyarakat umum, serta dapat dilakukannya penelitian lebih lanjut sehingga didapatkan data yang lebih lengkap. Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh sebab itu, diperlukan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan skripsi ini dimasa mendatang.

Indralaya, Juli 2024

Nyimas Luthpiah

NIM. 08041382025081

EXPLORATION OF RHIZOSPHERE BACTERIA FROM PETROLEUM-CONTAMINATED SOIL AROUND OIL WELLS IN TUNGKAL ILIR SUB-DISTRICT THAT HAVE THE POTENTIAL TO DEGRADE HYDROCARBON COMPOUNDS

Nyimas Luthpiah
08041382025081

SUMMARY

Traditional oil mining using simple equipment can have a negative impact on the soil environment and is harmful to health. One alternative method that can reduce petroleum hydrocarbon compounds in the soil is by utilizing hydrocarbonoclastic bacteria that live in the rhizosphere of plants that are able to grow from petroleum-contaminated soil around oil wells. The biodegradation mechanism owned by hydrocarbonoclastic bacteria by decomposing hydrocarbon compounds into carbon and energy sources for their survival.

The purpose of this study was to obtain isolates of hydrocarbonoclastic bacteria from the rhizosphere of plants that dominate in petroleum polluted soil and determine the potential of hydrocarbonoclastic bacteria in reducing TPH, and determine the identity of hydrocarbonoclastic bacteria that were successfully isolated. The research was conducted from December 2023 to April 2024 at the Microbiology Laboratory, Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya.

The research stages carried out were isolation and purification, selection of hydrocarbonoclastic bacteria, and biodegradation tests of hydrocarbonoclastic bacteria, as well as characterization and identification of hydrocarbonoclastic bacterial isolates. The results of this study obtained three isolates of hydrocarbonoclastic bacteria that have the potential to degrade hydrocarbon compounds derived from *Paspalum* sp. which dominates around petroleum polluted soil. Each isolate has the potential to reduce TPH with a percentage of biodegradation, namely isolate A51 by 17.26%, isolate A45 by 12.44%, and isolate A46 by 4.95%. The identification results show that bacterial isolate A45 is similar to the genus *Enterococcus*, isolate A46 is similar to the genus *Lactobacillus*, and isolate A51 is similar to the genus *Corynebacterium*.

Keywords: hydrocarbonoclastic bacteria, rhizosphere, oil well, bioremediation, total petroleum hydrocarbon (TPH).

EKSPLORASI BAKTERI RHIZOSFER DARI TANAH TERCEMAR MINYAK BUMI DI SEKITAR SUMUR MINYAK KECAMATAN TUNGKAL ILIR YANG BERPOTENSI MENDEGRADASI SENYAWA HIDROKARBON

Nyimas Luthpiah
08041382025081

RINGKASAN

Penambangan minyak secara tradisional dengan menggunakan peralatan yang masih sederhana dapat berdampak negatif bagi lingkungan tanah dan berbahaya bagi kesehatan. Metode alternatif yang dapat menurunkan senyawa hidrokarbon minyak bumi pada tanah salah satunya dengan memanfaatkan bakteri hidrokarbonoklastik yang hidup pada rhizosfer tumbuhan yang mampu tumbuh dari tanah tercemar minyak bumi di sekitar sumur minyak. Mekanisme biodegradasi yang dimiliki bakteri hidrokarbonoklastik dengan cara menguraikan senyawa hidrokarbon menjadi sumber karbon dan energi untuk kelangsungan hidupnya.

Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri hidrokarbonoklastik dari rhizosfer tumbuhan yang mendominasi di tanah tercemar minyak bumi dan mengetahui potensi bakteri hidrokarbonoklastik dalam menurunkan TPH, serta mengetahui identitas bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil diisolasi. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2023 sampai April 2024 di Laboratorium Mikrobiologi, Labrotarorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu isolasi dan pemurnian, seleksi bakteri hidrokarbonoklastik, dan uji biodegradasi bakteri hidrokarbonoklastik, serta karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri hidrokarbonoklastik. Hasil penelitian ini didapatkan tiga isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi mendegradasi senyawa hidrokarbon yang berasal dari *Paspalum* sp. yang mendominasi di sekitar tanah tercemar minyak bumi. Masing-masing isolat memiliki potensi menurunkan TPH dengan persentase biodegradasi yaitu isolat A51 sebesar 17,26%, isolat A45 sebesar 12,44%, dan isolat A46 sebesar 4,95%. Hasil identifikasi menunjukkan isolat bakteri A45 memiliki kemiripan dengan genus *Enterococcus*, isolat A46 memiliki kemiripan dengan genus *Lactobacillus*, dan isolat A51 memiliki kemiripan dengan genus *Corynebacterium*.

Kata Kunci : bakteri hidrokarbonoklastik, rhizosfer, sumur minyak, bioremediasi, total petroleum hidrokarbon (TPH).

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY	x
RINGKASAN	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Minyak Bumi.....	5
2.2. Senyawa Hidrokarbon	6
2.3. Pencemaran Tanah oleh Minyak Bumi.....	7
2.4. Bioremediasi.....	8
2.5. Rhizosfer Tumbuhan.....	10
2.6. Bakteri Hidrokarbonoklastik.....	11
2.7. Interaksi antara Rhizosfer Tumbuhan dan Bakteri Hidrokarbonoklastik.....	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	14
3.1. Waktu dan Tempat	14
3.2. Alat dan Bahan	14
3.3. Cara Kerja	15
3.3.1. Sterilisasi Alat dan Bahan	15
3.3.2. Pengambilan Sampel.....	15
3.3.3. Tahap Pengayaan	16
3.3.4. Isolasi dan Pemurniaan	17
3.3.5. Seleksi	17
3.3.6. Uji Kemampuan Isolat Bakteri dalam Mendegradasi TPH.....	18
3.3.7. Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik	21
3.3.8. Identifikasi Bakteri.....	26
3.3.9. Variabel Pengamatan	26
3.3.10. Penyajian Data	27

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Isolasi Bakteri dari Rhizosfer Tumbuhan yang Tercemar Minyak Bumi	28
4.2. Seleksi Bakteri dari Rhizosfer Tumbuhan yang Tercemar Minyak Bumi	32
4.3. Biodegradasi Bakteri Hidrokarbonoklastik	33
4.4. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik.	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
5.1. Kesimpulan.....	45
5.2. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil isolasi bakteri dari rhizosfer tumbuhan yang tercemar minyak bumi	28
Tabel 4.2. Hasil seleksi tahap I dan seleksi tahap II bakteri dari rhizosfer tumbuhan yang tercemar minyak bumi	30
Tabel 4.3. Hasil jumlah populasi bakteri pada hari ke-0 dan ke-14 inkubasi ..	32
Tabel 4.4. Hasil persentase degradasi TPH	33
Tabel 4.5. Hasil karakterisasi morfologi dan fisiologis isolat bakteri hidrokarbonoklastik	38

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 3.1. Peta lokasi penelitian di Sumur Minyak Desa Keluang
Bentayan, Kecamatan Tungkal Ilir, Kabupaten Banyuasin,
Sumatera Selatan 16
- Gambar 4.1. Pengamatan morfologi koloni bakteri hidrokarbonoklastik pada
medium NA tegak dan NA lempeng dengan perbesaran 4x 36
- Gambar 4.2. Pengamatan mikroskopis sel bakteri dan endospora pada
perbesaran 1000x 37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Medium	57
Lampiran 2. Pengambilan Sampel Rhizosfer	61
Lampiran 3. Hasil Isolasi dan Pemurnian.....	62
Lampiran 4. Hasil Seleksi Tahap I dan Seleksi Tahap II.....	63
Lampiran 5. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon	64
Lampiran 6. Hasil Karakteristik Bakteri Hidrokarbonoklastik.....	65

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penambangan minyak secara tradisional merupakan upaya pemenuhan minyak bumi di Indonesia yang dapat menyokong perekonomian dan kesejahteraan masyarakat, seperti yang dilakukan masyarakat Kecamatan Tungkal Ilir, Kabupaten Banyuasin termasuk salah satu daerah yang masih aktif dalam mengelola sumur minyak di Sumatera Selatan (Arief *et al.*, 2023). Akan tetapi, kegiatan penambangan minyak tersebut dapat berdampak negatif terhadap lingkungan sekitar sebab peralatan yang digunakan masih sederhana, sehingga kemungkinan minyak tumpah ataupun tercecer menjadi semakin besar yang berakibat terjadinya pencemaran pada lingkungan tanah (Fatahillah *et al.*, 2022). Oleh sebab itu, diperlukan metode penanganan yang efektif untuk memulihkan kualitas tanah tercemar minyak (Wagiono *et al.*, 2022).

Kualitas lingkungan tanah tercemar limbah minyak bumi dapat dipulihkan dengan cara biologis berupa bioremediasi sebab cara ini lebih efektif, efisien, dan ramah lingkungan daripada remediasi secara fisik ataupun kimia yang cenderung memerlukan biaya yang relatif lebih tinggi (Ainul *et al.*, 2021). Bioremediasi didasarkan pada metabolisme pencemar dengan cara menghilangkan, immobilisasi atau mengubahnya menjadi tidak terlalu beracun, sehingga pada akhirnya dapat mengurangi efek toksik terhadap lingkungan dengan memanfaatkan mikroba, seperti bakteri sebagai agen biologisnya (Veisser *et al.*, 2020).

Bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi atau disebut juga sebagai bakteri hidrokarbonoklastik sebab kemampuannya dalam memanfaatkan sumber karbon sebagai nutrisinya, dapat diisolasi dari berbagai lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi, contohnya di sekitar rhizosfer tumbuhan yang mampu hidup pada tanah tercemar minyak bumi (Hardestyariki *et al.*, 2021). Bakteri rhizosfer berupa bakteri yang hidup di daerah perakaran yang dapat mempengaruhi sifat-sifat tanah sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi yang tepat dalam menguraikan cemaran minyak bumi (Sari dan Retnaningrum, 2019).

Hubungan sinergis antara bakteri rhizosfer dengan tumbuhan berupa bakteri rhizosfer dapat meningkatkan regenerasi tumbuhan di daerah perakaran, kemudian eksudat akar akan meningkatkan 10-1000 kali lipat lebih banyak populasi bakteri hidrokarbonoklastik di rhizosfer daripada di daerah non rhizosfer. Hal ini dikarenakan kesediaan nutrisi dalam eskudat akar lebih melimpah, sehingga dapat meningkatkan proses bioremediasi (Kumar *et al.*, 2018). Hasil penelitian yang dilakukan dari rhizosfer mangrove di Hutan Mangrove Wanatirta, Yogyakarta yang terkontaminasi minyak bumi didapatkan bakteri *Pseudomonas* sp. dapat menguraikan hidrokaron dengan penurunan total petroleum hidrokarbon (TPH) sebesar 98,72% setelah 10 hari inkubasi (Benget dan Retnaningrum, 2020).

Penelitian Saeed *et al.* (2021), *Pseudoarthrobacter phenanthrenivoran* mampu menurunkan tingkat degradasi hidrokarbon minyak bumi sebesar 28.75% dan *Azospirillum oryzae* sebesar 20.13% dibandingkan dengan kontrol selama 40 hari inkubasi yang diisolasi dari rhizosfer jagung di tanah sekitar kilang minyak Rawalpindi, Pakistan. Kemudian, pada penelitian sebelumnya yang dilakukan

Hardestyariki *et al.* (2013), berhasil mengisolasi bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi sebagai agen bioremediasi hidrokarbon yang teridentifikasi sebagai *Actinobacillus*, *Proteus*, *Sporosarcina*, dan *Flavobacterium* yang diisolasi dari rhizosfer tumbuhan di lahan tambang minyak rakyat Kecamatan Babat Toman, Sumatera Selatan.

Berdasarkan uraian di atas, proses bioremediasi tanah yang tercemar minyak bumi melibatkan beberapa jenis bakteri indigen yang saling sinergis dan untuk memperoleh bakteri tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai eksplorasi bakteri indigen yang berasal dari rhizosfer tumbuhan yang mendominasi di tanah tercemar minyak bumi di sekitar sumur minyak Kecamatan Tungkal Ilir yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah berdasarkan latar belakang diatas, yaitu:

1. Apakah di sekitar rhizosfer tumbuhan yang mendominasi di tanah tercemar minyak bumi ditemukan bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon?
2. Bagaimana potensi bakteri hidrokarbonoklastik dari sekitar rhizosfer tumbuhan dalam menurunkan total petroleum hidrokarbon (TPH)?
3. Bagaimana karakteristik dan identitas isolat bakteri hidrokarbonoklastik dari sekitar rhizosfer tumbuhan yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan:

1. Untuk mendapatkan isolat bakteri hidrokarbonoklastik dari rhizosfer tumbuhan yang mendominasi di tanah tercemar minyak bumi yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon.
2. Untuk mengetahui potensi bakteri hidrokarbonoklastik dari sekitar rhizosfer tumbuhan dalam menurunkan total petroleum hidrokarbon (TPH).
3. Untuk mengetahui karakteristik dan identitas isolat bakteri hidrokarbonoklastik dari sekitar rhizosfer tumbuhan yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat untuk mendapatkan isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon sehingga diharapkan dapat menjadi dasar dalam mengembangkan metode bioremediasi yang lebih efektif, efisien, dan ramah lingkungan dalam mengatasi pencemaran tanah oleh minyak bumi dengan menggunakan agen biologis berupa bakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Bumi

Minyak bumi dapat dikatakan sebagai senyawa kompleks yang terdiri atas beberapa senyawa. Komposisi utama minyak bumi meliputi senyawa hidrokarbon dan senyawa heteroatomik tetapi dalam jumlah sedikit, seperti nitrogen, belerang, oksigen, serta unsur logam lainnya (Fuad *et al.*, 2022). Campuran kompleks yang terkandung dalam minyak bumi meliputi padatan, cairan, dan gas yang terbentuk selama dekomposisi akhir dari hewan dan tumbuhan yang sudah lama terpendam dalam kerak bumi akibat dari panas dan tekanan yang kemudian residu organik diubah menjadi minyak bumi dan selanjutnya naik ke permukaan bumi atau tetap berada dalam reservoir (Novianty *et al.*, 2020).

Komponen utama yang terdapat dalam minyak bumi terdiri atas senyawa hidrokarbon parafin, hidrokarbon alifatik jenuh, dan hidrokarbon aromatik yang berupa pengotor organik dan karsinogen. Minyak bumi terbagi menjadi empat golongan meliputi aromatik, jenuh, aspal, dan resin. Jenis minyak bumi yang diproduksi di Indonesia cukup beragam berupa terdapat yang ringan encer dan juga yang kental (Rahayu *et al.*, 2019). Komposisi minyak bumi dapat diklasifikasikan menjadi tiga berupa ringan dengan densitas 0,65-0,87 g/cm³, menengah dengan densitas 0,87-0,91 g/cm³, dan berat dengan densitas 0,91-1,05 g/cm³. Parameter ini merupakan parameter penting yang dapat mempengaruhi dampak pencemaran minyak bumi terhadap lingkungan (Stepanova *et al.*, 2022).

2.2 Senyawa Hidrokarbon

Hidrokarbon merupakan komponen utama dari minyak bumi atau yang umumnya disebut sebagai total petroleum hidrokarbon (TPH). Komponen utama minyak bumi yang terdiri dari hidrokarbon alifatik rantai pendek (C_8-C_{16}) dan rantai panjang ($C_{17}-C_{40}$), serta hidrokarbon aromatik yang sebagian besar terdiri atas karbon dan hidrogen (Khudur *et al.*, 2019). Penyusun utama dari minyak bumi dikenal sebagai petroleum hidrokarbon sebab hidrogen dan karbon merupakan penyusun utama dan yang paling banyak. Total petroleum hidrokarbon berupa suatu metode yang digunakan untuk menganalisis atau mengukur konsentrasi maupun jumlah hidrokarbon minyak bumi dari suatu lingkungan (Astuti dan Titah, 2021).

Total petroleum hidrokarbon (TPH) didefinisikan sebagai pengukuran kadar kontaminasi atau pencemaran senyawa hidrokarbon minyak bumi didalam tanah atau keseluruhan dari pencemar hidrokarbon dari sampel tanah yang umumnya dinyatakan dalam satuan mg hidrokarbon/kg tanah. Total petroleum hidrokarbon berdasarkan komponennya terbagi menjadi tiga golongan meliputi alifatik, alisiklik, dan aromatik (Handrianto, 2018).

Hidrokarbon pada dasarnya merupakan senyawa alami yang terbentuk dari fosil hewan ataupun tumbuhan dikarenakan aktivitas alam atau antropogenik. Hidrokarbon terdiri atas atom hidrogen dan karbon yang memiliki fungsi sebagai bahan dasar dari minyak mentah, gas alam atau batu bara untuk persediaan energi bagi sebagian dunia. Klasifikasi hidrokarbon terbagi menjadi empat bagian meliputi jenuh, aromatik (monosiklik dan polisiklik), resin (kuinolin, piridin, karbazol, dan sulfoksida), dan aspalten (asam lemak, keton, fenol, dan ester) (Imam *et al.*, 2019).

2.3 Pencemaran Tanah oleh Minyak Bumi

Tanah merupakan suatu sistem kehidupan yang terdiri dari berbagai jenis organisme, seperti makroorganisme maupun mikroorganisme (Eryah *et al.*, 2023). Mikroba dalam tanah mempunyai peranan yang penting terhadap kesuburan tanah, serta dapat dijadikan sumber nutrisi dan mineral, disamping perannya dalam mentransformasi senyawa kimia. Keberlangsungan hidup mikroba tanah dilakukan dengan memanfaatkan nutrisi yang berada didalam tanah (Abdila *et al.*, 2021). Masuknya bahan-bahan asing ke dalam lingkungan tanah akan mencemari tanah sehingga dapat menurunkan kuliatas tanah dan membahayakan organisme hidup didalamnya dan lingkungan sekitar tanah (Akhmaddhian dan Hanipah, 2021).

Pencemaran tanah dapat dikatakan sebagai suatu kondisi dimana zat atau bahan asing masuk dan tercampur tanah sehingga mengubah lingkungan alami tanah (Elvania *et al.*, 2023). Zat yang berbahaya ataupun beracun jika berada dipermukaan tanah, maka apabila terkena air hujan akan menguap atau meresap ke dalam tanah. Sebagian besar penyebab pencemaran tanah ditimbulkan oleh kegiatan manusia (Sugito *et al.*, 2020). Pencemaran tanah dapat disebabkan oleh minyak bumi, logam berat, herbisida, dan pestisida. Minyak bumi yang terbuang atau tercecer di tanah akan menjadi permasalahan lingkungan yang serius apabila terjadi terus-menerus dan dalam jumlah yang besar (Aviantara dan Suryati, 2021).

Kontaminasi tanah yang diakibatkan minyak bumi menjadi perhatian utama sebab berdampak dapat merusak struktur tanah, biodegrabilitas, dan berbahaya bagi kesehatan apabila terpapar ke lingkungan. Lingkungan tanah yang tertumpah minyak bumi akan masuk ke partikel tanah, lalu menghalangi difusi udara di pori-

pori tanah, kemudian menyebabkan terjadinya perubahan sifat-sifat tanah sehingga secara tidak langsung mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroba dan tumbuhan (Devatha *et al.*, 2019).

Sumber utama pencemaran hidrokarbon minyak bumi pada lingkungan tanah dapat disebabkan oleh berbagai aktivitas-aktivitas manusia dan juga proses alam (Ehis-Eriakha *et al.*, 2020). Kegiatan manusia seperti penambangan minyak bumi meliputi proses eksplorasi, eksploitasi, pengangkutan, pengelolaan, maupun penyimpanan apabila terlepas secara sengaja ataupun tidak sengaja di tanah dapat menimbulkan kontaminasi hidrokarbon (Ahmed dan Fakhruddin, 2018).

2.4 Bioremediasi

Bioremediasi didefinisikan sebagai proses yang memanfaatkan agen biologis seperti bakteri, fungi, tumbuhan maupun enzim dalam menguraikan limbah organik maupun anorganik untuk mengurangi kadar cemaran atau kontaminasi yang berada dibawah baku mutu lingkungan sesuai dengan ketentuan lembaga berwenang atau untuk mengendalikan pencemar yang mengandung bahan berbahaya sehingga aman bagi lingkungan (Wagiono *et al.*, 2022). Bioremediasi merupakan proses dimana mikroba distimulasi untuk secara cepat dalam mengurangi kadar bahan pencemar yang berbahaya dalam tanah, air, ataupun sedimen ke tingkat yang tidak membahayakan lingkungan (Apriliya *et al.*, 2020).

Penggunaan mikroba untuk memulihkan pencemaran akan diseleksi sebelum dikembangkan pada pencemaran tertentu. Enzim yang dihasilkan mikroba akan mengubah komposisi polutan toksik menjadi polutan non-kompleks sehingga saat dilakukan bioremediasi, produk akhir yang dihasilkan meliputi karbondioksida, air,

dan energi yang berupa metabolit yang tidak berbahaya dan beracun (Zafira, 2021). Agen bioremediasi seperti bakteri mempunyai mekanisme khusus untuk mendegrasi pencemar dengan cara berbeda sesuai dengan proses metabolisme dan substrat pencemar. Proses bioremediasi dalam mendegradasi pencemar termasuk proses kompleks dan sangat bergantung komposisi komunitas mikroba *indigenous*, jumlah pencemar, dan kondisi lingkungannya (Khastini *et al.*, 2022).

Teknik bioremediasi terbagi menjadi dua yakni melalui bioremediasi augmentasi yang disebut bioaugmentasi atau bioremediasi stimulasi yang disebut biostimulasi (Ratni dan Shofiandi, 2021). Bioaugmentasi merupakan penambahan mikroba pendegradasi untuk melengkapi populasi mikroba *indigenous* dan mempercepat proses biodegradasi. Bioaugmentasi melibatkan penggunaan strain tunggal ataupun konsorsium mikroba yang terdiri atas banyak mikroba pendegradasi yang diketahui mempunyai kemampuan metabolik dan katalitik yang mempercepat proses biodegradasi mikroba di lingkungan yang tercemar (Abena *et al.*, 2019).

Biostimulasi berupa metode yang melibatkan modifikasi lingkungan yang terkontaminasi untuk menstimulasi aktivitas metabolisme dari mikroba *indigenous* yang mampu mendegradasi kontaminan. Biostimulasi bergantung pada adanya populasi mikroba *indigenous* dan lingkungan yang terkontaminasi dapat diubah sehingga dapat memulihkan pencemaran lingkungan. Penggunaan biostimulasi misalnya untuk mendegradasi tanah yang tercemar hidrokarbon minyak bumi dikembangkan berdasarkan proses biologis yang mendukung kondisi aerobik, ketersediaan nutrisi, dan kelembaban optimal untuk meningkatkan aktivitas mikroba *indigenous* dan degradasi mikroba selanjutnya (Ibok dan Ite, 2019).

Faktor-faktor yang dapat menghambat proses bioremediasi meliputi faktor kimia, lingkungan, dan mikrobiologi. Faktor kimia berupa rendahnya ketersediaan unsur hara dan tidak terdapat senyawa yang menyokong pertumbuhan, sedangkan faktor lingkungan dapat dipengaruhi oleh keberadaan elektron, seperti pH, suhu, dan kelembaban. Sementara itu, faktor mikrobiologi berupa kepadatan populasi mikroba pendegradasi pencemar yang terlalu rendah (Ratni dan Shofiandi, 2021). Selain itu, proses bioremediasi pada tanah yang terkontaminasi juga dapat dipengaruhi oleh jenis pencemar, dan konsentrasi zat pencemar yang sudah mencemari tanah, serta lamanya waktu terjadinya pencemaran (Handrianto, 2018).

2.5 Rhizosfer Tumbuhan

Rhizosfer dapat dikatakan sebagai lapisan tanah yang terdapat diantara serabut perakaran tumbuhan yang dipengaruhi oleh eksudat akar dan mikroba tanah, seperti bakteri. Rhizosfer termasuk habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri. Ketersediaan nutrisi bagi bakteri dan akar tumbuhan dapat meningkat akibat adanya interaksi antara keduanya (Sugianto *et al.*, 2019). Akar akan menyediakan berbagai bahan organik yang disebut eksudat akar, seperti asam amino, asam organik, oksigen dan juga gula yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri. Kelompok bakteri tanah yang berkoloni di daerah perakaran tumbuhan (rhizosfer) disebut sebagai rhizobakteri (Febriani *et al.*, 2023).

Populasi bakteri yang terdapat dalam rhizosfer tumbuhan sangat melimpah dibandingkan tanah tanpa perakaran. Rhizobakteri dapat dimanfaatkan dan digunakan melalui suatu metode yang ramah lingkungan berupa sebagai agen yang berpotensi dalam bioremediasi, biokontrol, dan biofertilisasi sehingga dapat

memulihkan dan meningkatkan kualitas dan kesuburan tanah, serta dapat menjaga kelestarian lingkungan (Nwachukwu *et al.*, 2021). Beberapa contoh bakteri yang umumnya ditemukan pada rhizosfer tumbuhan meliputi *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Peanibacillus*, *Neobacillus*, *Micrococcus*, *Actinomyces*, *Arthrobacter*, dan *Streptomyces* (Santoyo *et al.*, 2021).

2.6 Bakteri Hidrokarbonoklastik

Mikroorganisme yang sebagian besar hidup dan berperan dalam lingkungan tercemar hidrokarbon dari minyak bumi berupa bakteri. Namun, tidak semua bakteri dapat menguraikan hidrokarbon, bakteri yang dapat mengurai senyawa hidrokarbon minyak bumi disebut bakteri hidrokarbonoklastik (Welan *et al.*, 2019). Degradasi pencemaran hidrokarbon minyak bumi hanya dapat dilakukan oleh bakteri yang memiliki kemampuan fisiologis dan metabolik yang dapat beradaptasi dengan lingkungan tersebut yakni dengan meningkatkan afinitas sel terhadap hidrokarbon dengan membentuk gugus hidrofobik pada dinding sel dan juga meningkatkan kelarutan hidrokarbon melalui produksi surfaktan ekstraseluler (Novianty *et al.*, 2020).

Bakteri hidrokarbonoklastik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan dalam memanfaatkan senyawa hidrogen yang kompleks dalam proses metabolisme, kemudian dapat diubah menjadi senyawa lain yang lebih sederhana, kurang toksik hingga menjadi tidak toksik atau disebut juga sebagai bakteri pendegradasi minyak (Afianti dan Febrian, 2020). Bakteri yang ditemukan dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi meliputi bakteri dari genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas*, *Cycloclasticus*,

dan *Neptunomonas* yang umumnya dapat mengurai atau memetabolisme senyawa hidrokarbon terbatas, misalnya dapat mendegrasi alkana dan aromatik, serta juga senyawa hidrokarbon aromatik dan parafinik (Kebede *et al.*, 2021).

2.7 Interaksi antara Rhizosfer Tumbuhan dan Bakteri Hidrokarbonoklastik

Rhizosfer berupa zona tanah dimulai dari permukaan tanah hingga kedalaman 1-5 mm, dimana terjadi hubungan saling ketergantungan antara akar dan mikroba yang menghasilkan simbiosis mutualisme (Chen dan Zhong, 2019). Peran tumbuhan pada bakteri hidrokarbonoklastik yakni melalui sistem perakarannya dengan melepaskan eksudat akar yang mengandung senyawa organik yang terdiri atas gula, asam amino, oksigen, dan asam organik yang dimetabolisme oleh bakteri sehingga dapat membantu mendegradasi kontaminasi hidrokarbon minyak bumi. Akar mengemburkan tanah dan melepaskan oksigen ke dalam tanah sehingga merangsang energi pada bakteri dan dapat meningkatkan jumlah populasi bakteri hidrokarbonoklastik (Stepanova *et al.*, 2022).

Peningkatan populasi bakteri di rhizosfer mencapai 5-10 kali lipat sebab akar menyediakan substrat pertumbuhan dan metabolisme bagi bakteri. Tumbuhan yang berada di lingkungan yang terkontaminasi minyak bumi umumnya merespons dengan meningkatkan eksudat akar sehingga memungkinkan dalam menyeleksi bakteri pendegradasi pencemar di rhizosfernya (Hussain *et al.*, 2018). Sifat total petroleum hidrokarbon (TPH) yang sangat hidrofobik dan kemungkinan penyerapannya membatasi kemampuan bakteri dalam memproses kontaminan. Oleh sebab itu, eksudat akar dari tumbuhan tidak hanya mendukung pertumbuhan

bakteri, namun juga dapat meningkatkan aktivitas bakteri di rhizosfer sehingga menghasilkan mineralisasi TPH dengan lebih optimal (Hoang *et al.*, 2021).

Pemanfaatan sinergis antara bakteri rhizosfer dan akar tumbuhan berpengaruh besar dalam proses bioremediasi hidrokarbon minyak bumi menjadi lebih efektif. Tumbuhan akan menyediakan sumber karbon khusus bagi populasi bakteri *indigenous* yang dapat merangsang pertumbuhannya dalam mengurai kontaminasi hidrokarbon minyak bumi di dalam tanah (Ibok dan Itek, 2019). Terdapat beberapa genus bakteri rhizosfer yang dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi berupa *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Cronobacter*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Ochrobactrum*, *Curtobacterium*, *Flavobacterium*, *Sphingobacterium*, dan *Stenotrophomonas* (Sari dan Retnaningrum, 2019).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2023 sampai April 2024 di Laboratorium Mikrobiologi, serta Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu autoklaf, bunsen, cawan petri, *cool box*, corong pisah, erlenmeyer, gelas objek, gelas piala, gelas ukur, *hot plate*, indikator universal, inkubator, jarum ose (ose bulat dan ose lurus), kaca penutup, korek api, labu ukur, lemari es, *magnetic stirrer*, mikropipet dan tip, mikroskop, neraca analitik, pipet tetes, *shaker incubator*, *soil tester*, spatula, spektrofotometer, spreader, tabung reaksi, vortex, dan *ziplock*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alkohol 70%, alkohol 96%, aluminium foil, aquades, asam sulfat (H_2SO_4), barium klorida ($BaCl_2$), *crude oil*, *handscoon*, kalium hidroksida (KOH), 8kapas, kertas label, kertas saring, kristal violet, larutan fisiologis (NaCl 0,98%), Lugol, *malachite green*, medium agar pati, medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) cair, medium Indol, medium MR-VP broth, medium nutrien gelatin, medium *Sulfide Indol Motility* (SIM), medium *Simmons Citrat Agar*, medium Soeminarti, medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), medium *urea broth*, medium Zobell, *methyl red*, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient*

Broth (NB), *plastic wrap*, reagen hidrogen peroksida (H₂O₂), reagen α -naphthol, reagen *Kovac's*, safranin, sampel tanah, spritus, tisu, dan toluene.

3.3 Cara Kerja

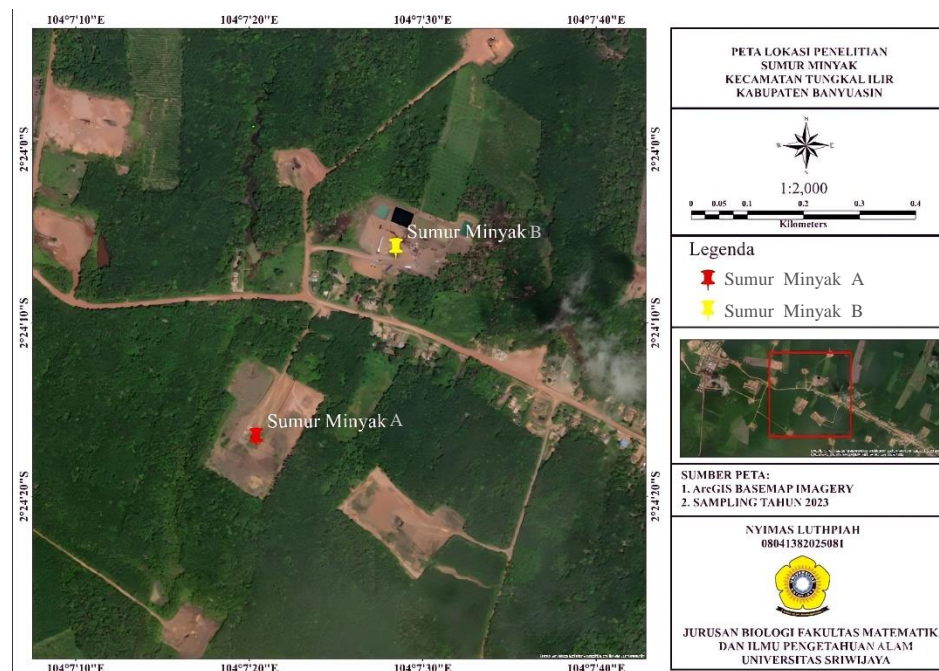
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat-alat gelas seperti cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, dan pipet tetes disterilisasikan dengan cara dibungkus dengan menggunakan kertas dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Lalu, alat berbahan besi disterilisasi dengan dipanaskan di atas nyala api bunsen hingga terlihat pijar merah. Sementara itu, alat yang tidak tahan panas disterilisasikan dengan alkohol 70%. Untuk sterilisasi media pertumbuhan yang telah dibuat seperti medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), Soeminarti, dan Zobell dalam erlenmeyer ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil, lalu dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit (Shalihat *et al.*, 2017).

3.3.2 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat diambil dari rhizosfer *Paspalum* sp. dan *Waltheria* sp. yang mendominasi pada tanah tercemar minyak bumi di sekitar sumur minyak Desa Keluang Bentayan, Kecamatan Tungkal Ilir, Kabupaten Banyuasin, Sumatera Selatan. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* pada dua sumur minyak yang pada setiap sumur minyak diambil tiga titik perakaran rhizosfer. Sumur minyak pertama berada pada titik koordinat 2°24'19.75" LS dan 104°7'28.48" BT, sedangkan sumur minyak kedua

berada pada titik koordinat $2^{\circ}24' 5.407''$ LS dan $104^{\circ}7'28.477''$ BT (Gambar 3.1). Sampel diambil dengan dicabut dan diguncang *Paspalum* sp. dan *Waltheria* sp. untuk melepaskan sebagian besar tanah yang menempel pada akar, kemudian tanah dikumpulkan sebanyak kurang lebih 10-50 gram, lalu sampel rhizosfer dari masing-masing titik pengambilan dikompositkan (Sari dan Retnaningrum, 2019).



Gambar 3.1 Peta lokasi penelitian di Sumur Minyak Desa Keluang Bentayan, Kecamatan Tungal Ilir, Kabupaten Banyuasin, Sumatera Selatan

3.3.3 Tahap Pengayaan

Sampel tanah diambil sebanyak 5 gram, lalu dimasukkan ke dalam erlemeyer yang telah berisi 45 ml BHMS cair, kemudian diagitasi dengan kecepatan 120 rpm pada suhu kamar dan diinkubasi selama 5 hari atau hingga menunjukkan pertumbuhan yang ditandai dengan campuran limbah dan medium BHMS berubah menjadi keruh (Hardestyariki *et al.*, 2020).

3.3.4 Isolasi dan Pemurnian

Masing-masing sampel diencerkan setelah proses pengayaan sampai 10^{-6} secara aseptis dengan menyiapkan 6 tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan NaCl 0,98%. Sampel diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi pertama sebagai 10^{-1} , kemudian dari tabung reaksi pengenceran 10^{-1} di vortex sampai homogen. Selanjutnya, diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} , kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Hal yang sama dilakukan sampai didapatkan pengenceran 10^{-6} (Ainul *et al.*, 2019). Setelah itu, diambil sebanyak 1 mL sampel dari pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} , lalu dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi medium Zobell agar secara *pour plate* kemudian dihomogenkan, selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 30°C (Gofar, 2012).

Setiap koloni bakteri yang tumbuh dengan ciri yang berbeda, kemudian masing-masing dimurnikan dengan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi medium *Nutrient Agar* (NA) padat secara *streak plate*, lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 30°C . Selanjutnya, koloni yang telah murni diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium NA miring untuk penyimpanan stok biakan bakteri (Gofar, 2012).

3.3.5 Seleksi

Seleksi untuk setiap isolat yang telah diperoleh dari hasil pemurnian akan diseleksi berdasarkan kemampuannya bertahan hidup dan tumbuh pada medium yang mengandung minyak bumi, serta kemampuan untuk menggunakan minyak

bumi tersebut untuk memenuhi nutrisinya yang dilakukan melalui dua tahap meliputi :

1. Seleksi Tahap I

Isolat bakteri yang telah murni diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi medium Zobell padat secara *streak plate*, lalu di atas permukaan medium diletakkan kertas saring yang telah diolesi dengan *crude oil*, selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 30°C. Isolat yang mampu bertahan hidup dan tumbuh pada lingkungan yang mengandung minyak bumi ditunjukkan dengan tumbuhnya koloni isolat bakteri pada permukaan medium Zobell yang telah diolesi dengan *crude oil* (Gofar, 2012).

2. Seleksi Tahap II

Isolat bakteri yang telah lulus seleksi tahap I kemudian diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium Soeminarti cair sebanyak 10 ml, lalu ditambahkan 3,75% atau 0,3 mL *crude oil*, selanjutnya diinkubasi selama 5 hari dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 30°C. Isolat yang tumbuh dan memiliki kemampuan dalam memanfaatkan minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi akan diindikasikan dengan terbentuknya lapisan berwarna putih diantara fase media (cair) dan fase residu. Maka, isolat bakteri tersebut dinyatakan sebagai isolat terpilih (Gofar, 2012).

3.3.6 Uji Kemampuan Isolat Bakteri dalam Mendegradasi TPH

Masing-masing isolat bakteri yang telah lulus seleksi tahap II akan dilakukan uji biodegradasi senyawa hidrokarbon dengan pengamatan variabel berupa jumlah populasi bakteri dan pengukuran TPH sebagai berikut :

1. Pembuatan Larutan McFarland 0.5

Pembuatan larutan BaCl₂ 1% dilakukan dengan cara melarutkan 1 gram BaCl₂ dalam *aquadest* hingga 100 ml. Selanjutnya, pembuatan larutan H₂SO₄ 1% dengan cara memipet 2,64 ml H₂SO₄ 1% ditambahkan *aquadest* hingga 250 ml. Kemudian, diambil BaCl₂ 1% 0,5 ml dan H₂SO₄ 1% 99,5 ml. Lalu, dicampurkan keduanya dalam botol gelap dan dihomogenkan. Selanjutnya, botol gelap ditutup dengan rapat dan disimpan di tempat gelap pada suhu kamar (Setiawan, 2021).

2. Pembuatan Starter

Masing-masing bakteri diambil sebanyak dua ose, lalu dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis dan diinokulasikan ke dalam medium BHMS cair, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam (Estuningsih dan Yudono, 2013). Setelah itu, diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofometer dengan absorbansi 0,08-0,1 pada panjang gelombang 625 nm sesuai dengan standar McFarland (Nabila *et al.*, 2021).

3. Pengujian Biodegradasi Hidrokarbon

Masing-masing isolat bakteri sebanyak 4 mL diinokulasikan ke dalam 28 mL medium BHMS cair, lalu ditambahkan dengan 20% atau 8 mL *crude oil*. Kemudian, diinkubasi di atas *shaker incubator* selama 14 hari dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 30°C. Perlakuan ini dibuat ulangan sebanyak tiga kali dan satu kontrol. Selanjutnya, dilakukan pengamatan pada hari ke-0 dan ke-14 (Welan *et al.*, 2019).

4. Penghitungan Populasi Bakteri

Masing-masing sampel yang telah diinkubasi pada hari ke-0 dan ke-14 diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam

tabung reaksi pertama yang berisi 9 mL NaCl fisiologis untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} , lalu di vortex sampai homogen. Kemudian, diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} , lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Hal yang sama dilakukan sampai didapatkan pengenceran 10^{-6} (Martiningsih dan Rahmi, 2019). Selanjutnya, masing-masing 1 ml dari tiga pengenceran terakhir meliputi 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu dituangkan 10 ml medium NA secara *pour plate*, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Kemudian, jumlah sel bakteri dihitung dengan rumus (Mijaya *et al.*, 2018) :

$$\text{jumlah sel bakteri (CFU/mL)} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

5. Pengukuran Total Petroleum Hidrokarbon (TPH)

Pengukuran TPH dilakukan sesudah kultur diinkubasi yaitu sebanyak 12 ml larutan toluene ditambahkan ke dalam medium yang mengandung minyak untuk mengekstrak minyak yang tersisa. Kemudian, campuran medium dan pelarut dimasukkan ke dalam corong pisah dan diguncang selama 3-5 menit, lalu didiamkan hingga membentuk dua lapisan meliputi lapisan atas yang berupa ekstrak minyak dan toluene, sedangkan lapisan bawah berupa medium BHMS. Selanjutnya, dipisahkan lapisan atas dan lapisan bawah. Lapisan atas yang mengandung ekstrak minyak dan toluene dipindahkan ke dalam botol vial yang telah diketahui beratnya, lalu diuapkan pada suhu ruang hingga toluene habis dan yang tersisa hanya minyak. Setelah itu, minyak ditimbang menggunakan timbangan analitik. Bobot yang terukur berupa berat TPH akhir (Cahyani *et al.*, 2022).

Menurut Omenna (2023), total hidrokarbon yang didegradasi oleh bakteri dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{\text{TPH awal} - \text{TPH akhir}}{\text{TPH awal}} \times 100\%$$

Keterangan : TPH_{awal} = TPH pada hari ke-0

TPH_{akhir} = TPH pada hari ke-14

6. Pengukuran pH

Pengukuran nilai pH medium dilakukan menggunakan indikator universal pada hari ke-0 dan ke-14. Masing-masing sampel yang telah disiapkan kemudian dicelupkan dengan indikator universal. Selanjutnya, diamati dan dicatat hasil pengukuran nilai pH medium (Hariani dan Muzayana, 2019).

3.3.7 Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik

Isolat yang berpotensi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik akan dilakukan karakterisasi berupa karakterisasi secara morfologi dan fisiologis sebagai berikut :

A. Karakterisasi Morfologi secara Makroskopis

Karakterisasi morfologi secara makroskopis dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada medium *nutrient agar* tegak, *nutrient broth*, dan *nutrient agar* lempeng. Isolat bakteri ditumbuhkan dengan diambil 1 ose biakan bakteri lalu diinokulasikan dengan cara menusukkan jarum ose pada *nutrient agar* tegak, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah itu, diamati bentuk pertumbuhan pada bekas tusukan (Cappucino dan Welsh, 2017). Isolat bakteri ditumbuhkan dengan diambil 1 ose biakan bakteri, lalu diinokulasikan pada medium *nutrient broth*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

Setelah itu, dapat dilihat kebutuhan oksigennya (Wulandari, 2022). Isolat bakteri ditumbuhkan dengan diambil 1 ose biakan bakteri, lalu diinokulasikan pada *nutrient agar* lempeng secara *streak plate*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, diamati tepian koloni, bentuk koloni, elevasi, permukaan koloni dan warna koloni (Wulandari dan Purwaningsih, 2019).

B. Karakterisasi Morfologi secara Mikroskopis

Karakterisasi morfologi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram dan pewarnaan endospora sebagai berikut :

1. Pewarnaan Gram

Isolat bakteri yang sudah dibiakkan dioleskan pada kaca objek yang sudah ditetesi NaCl dan dibiarkan kering. Kemudian, difiksasi diatas nyala api 3 kali dan dinginkan. Selanjutnya, preparat ditetesi larutan kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air. Kemudian, ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit, lalu dibilas dengan air. Setelah itu, dihilangkan warnanya dengan ditetesi alkohol 96% selama 30 detik, lalu dibilas dengan air. Kemudian, ditetesi preparat dengan larutan safranin selama 45-60 detik, lalu bilas dengan air dan biarkan mengering. Selanjutnya, diamati dibawah mikroskop. Hasil pengamatan berwarna ungu mengindikasikan bakteri gram positif, sedangkan bakteri gram negatif dinyatakan apabila hasil pengamatan berwarna merah (Amaliah *et al.*, 2018). Setelah itu, diamati ukuran dan bentuk dari sel bakteri yang dapat berbentuk bulat (*coccus*), batang (*basil*), atau bergelombang (*spiral*) (Panjaitan *et al.*, 2020).

2. Pewarnaan Endospora

Isolat bakteri diambil 1 ose lalu dioleskan di atas preparat yang telah ditetesi dengan akuades steril, kemudian preparat difiksasi di atas api bunsen beberapa kali dan diletakkan di atas penangas air. Selanjutnya, ditetesi larutan *malachite green* di atas preparat yang telah dilapisi kertas saring, lalu didiamkan 5 menit dan dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, ditetesi larutan safranin dan dibiarkan 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir. Kemudian, preparat dikeringanginkan dan diamati di bawah mikroskop. Uji pewarnaan endospora positif apabila sel vegetatif berwarna merah dan endospora berwarna hijau (Salsabilla dan Trimulyono, 2022).

C. Uji Fisiologis

1. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan *hydrogen peroksida* (H_2O_2) pada gelas objek. Lalu, diinokulasikan 1 ose isolat bakteri menggunakan jarum ose pada tetesan H_2O_2 . Reaksi positif akan ditandai dengan adanya gelembung udara pada medium dan apabila tidak terdapat gelembung udara pada tabung reaksi maka reaksi tersebut negatif (Apriliya *et al.*, 2020).

2. Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan dengan diambil biakan bakteri menggunakan jarum ose secara aseptik, kemudian diinokulasikan secara vertikal pada medium semi padat SIM (*Sulfide Indole Motility*), lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$. Bakteri motil ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan pada permukaan medium dan menyebar dari tusukan, sedangkan bakteri non motil diindikasikan dengan pertumbuhan di sekitar tusukan (Susanti dan Trinanda, 2017).

3. Uji Indol

Uji indol dilakukan dengan diambil biakan bakteri menggunakan jarum ose secara aseptik dan diinokulasikan ke dalam medium indol, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 10-12 tetes reagen *Kovac's* untuk mengamati hasil uji indol. Adanya cincin merah di permukaan medium menunjukkan hasil uji positif (Safitri *et al.*, 2019).

4. Uji H₂S

Medium TSIA disiapkan dalam tabung reaksi, kemudian isolat bakteri diinokulasikan secara aseptik menggunakan jarum ose dengan cara ditusuk pada bagian tengah hingga kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dari permukaan medium, lalu digores pada bagian miring dari medium. Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Apabila terbentuk endapan berwarna hitam pada bagian bawah medium menandakan hasil positif sehingga diindikasikan bakteri dapat membentuk H₂S (Kokasi *et al.*, 2019).

5. Uji *Methyl Red*

Biakan bakteri diambil secara aseptik menggunakan jarum ose dan diinokulasikan ke dalam medium MR-VP, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu dengan suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 3-4 tetes indikator *methyl red*. Apabila terdapat perubahan warna medium menjadi merah mengindikasikan hasil pengujian positif (Rahayu dan Gumilar, 2017).

6. Uji Sitrat

Medium *Simmon's citrat* disiapkan dalam tabung reaksi, lalu diinokulasikan biakan bakteri secara aseptik dengan cara pada permukaannya digores secara zig-

zag dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Apabila terjadi perubahan warna medium dari hijau menjadi biru menandakan hasil positif (Rahmawati *et al.*, 2021).

7. Uji Voges-Proskauer

Biakan bakteri diambil menggunakan jarum ose secara aseptik, lalu diinokulasikan ke dalam medium MR-VP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, ditetesi dengan reagen α -naphthol dan KOH sebanyak 3-5 tetes. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi merah (Cappuccino dan Welsh, 2017).

8. Uji Fermentasi Gula

Biakan bakteri diambil menggunakan jarum ose secara aseptik, lalu diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham dan medium *Nutrient Broth* (NB) yang mengandung gula glukosa 1%, sukrosa 1%, dan laktosa 1%. Perubahan medium dari merah menjadi kuning dan terbentuk gas pada tabung durham menandakan hasil positif (Cappuccino dan Welsh, 2017).

9. Uji Hidrolisis Urea

Uji hidrolisis urea dilakukan dengan disiapkan medium *Urea Broth* dalam tabung reaksi, lalu diinokulasikan isolat bakteri secara aseptik ke dalam tabung dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Perubahan medium menjadi merah muda menandakan hasil positif (Cappuccino dan Welsh, 2017).

10. Uji Hidrolisis Pati

Uji hidrolisis pati dilakukan dengan disiapkan medium agar pati ke dalam cawan petri steril, kemudian diinokulasikan isolat bakteri secara aseptik ke dalam medium agar pati dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25-27°C. Selanjutnya,

apabila terlihat adanya pertumbuhan diteteskan larutan iodin/lugol disekitar koloni bakteri pada medium tumbuh, lalu dibiarkan selama beberapa menit. Terjadinya hidrolisis pati oleh enzim amilase ditunjukkan dengan adanya daerah bening disekitar koloni (Nuryati *et al.* 2021).

11. Uji Hidrolisis Gelatin

Uji hidrolisis gelatin dilakukan dengan diinokulasikan isolat bakteri menggunakan jarum ose secara aseptik dengan cara ditusuk pada medium nutrisi gelatin, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, diinkubasi pada inkubator selama 30 menit pada suhu 4°C. Gelatin yang telah dihidrolisis akan tetap cair meskipun disimpan pada suhu 4°C mengindikasikan hasil positif, sedangkan akan negatif jika berubah menjadi beku (Cappuccino dan Welsh, 2017).

3.3.8 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan setelah didapatkan bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi dari hasil seleksi dan karakterisasi, kemudian dibandingkan dengan menggunakan buku identifikasi *Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition* dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition*.

3.3.9 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi :

1. Jumlah populasi bakteri.
2. Persentase biodegradasi TPH oleh bakteri hidrokarbonoklastik.
3. Karakter morfologi dan fisiologis bakteri.

3.3.10 Penyajian Data

Data yang diperoleh meliputi hasil isolasi dan seleksi isolat bakteri hidrokarbonoklastik, serta uji biodegradasi bakteri hidrokarbonoklastik disajikan dalam bentuk tabel. Hasil karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri dari Rhizosfer Tumbuhan yang Tercemar Minyak Bumi

Berdasarkan hasil isolasi diperoleh 20 isolat bakteri yang mempunyai koloni bakteri dengan ciri berbeda. Hasil isolasi bakteri dari rhizosfer tumbuhan yang tercemar minyak bumi dapat disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil isolasi bakteri dari rhizosfer tumbuhan yang tercemar minyak bumi

No.	Lokasi Sampling	Rhizosfer tumbuhan	Kode Isolat	Jumlah Isolat
1.	A	<i>Paspalum</i> sp.	A41, A42, A43, A44, A45, A46, A51, A52, A53, A54, A55, A61	12
2.	B	<i>Waltheria</i> sp.	B41, B42, B43, B44, B45, B51, B52, B61	8

Berdasarkan tabel 4.1. diketahui bahwa pada tanah yang tercemar minyak bumi ditemukan tumbuhan yang mampu tumbuh yaitu pada lokasi A terdapat *Paspalum* sp., sedangkan pada lokasi B terdapat *Waltheria* sp. Tumbuhan tersebut mampu tumbuh di tanah tercemar minyak bumi dikarenakan mempunyai toleransi yang cukup baik terhadap kontaminasi hidrokarbon dan memiliki struktur akar yang tidak dipengaruhi oleh minyak bumi sehingga masih dapat menyerap unsur hara dengan baik. Menurut Ibok dan Ite (2019), tanah terkontaminasi hidrokarbon dapat berdampak negatif bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidup tumbuhan yang berakibat tumbuhan mengalami kematian. Namun, beberapa tumbuhan memiliki ketahanan kuat terhadap kontaminasi hidrokrabon dengan cara mengakumulasi senyawa hidrokarbon melalui sistem perakaran yang kuat dan sebaran perakarannya di dalam tanah yang baik, seperti tumbuhan kelompok rerumputan maupun semak.

Isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari sampel rhizosfer *Paspalum* sp. terdapat sebanyak 12 isolat, sedangkan dari sampel rhizosfer *Waltheria* sp. didapatkan 8 isolat (Tabel 4.1). Perbedaan jumlah bakteri yang diperoleh dari kedua lokasi sampling disebabkan eksudat akar yang dilepaskan oleh masing-masing tumbuhan berbeda. Menurut Irawan *et al.* (2022), eksudat akar yang dikeluarkan pada tiap tumbuhan mempunyai kandungan senyawa yang berbeda-beda sehingga dapat berperan dalam menyeleksi bakteri. Kandungan eksudat akar yang dihasilkan *Paspalum* sp. meliputi asam organik yang dapat menjadi sumber karbon, lalu terdapat asam amino, gula, senyawa fenolik, serta vitamin dan mineral yang dapat mendukung meningkatkan pertumbuhan populasi bakteri di daerah rhizosfer.

Pada sampel rhizosfer *Paspalum* sp. diperoleh lebih banyak isolat bakteri dibandingkan dengan sampel rhizosfer *Waltheria* sp. Hal ini juga dapat dikarenakan *Paspalum* sp. mempunyai sistem perakaran yang berserabut dan panjang sehingga dapat mampu memberikan permukaan yang lebih luas untuk pertumbuhan bakteri rhizosfer yang ada pada setiap akar. Menurut Suryati (2015), struktur akar yang berserabut banyak dengan luasan permukaan yang lebih besar dapat menyediakan bahan organik lebih melimpah untuk pertumbuhan populasi bakteri dibandingkan tumbuhan yang perakarannya kurang berserabut. Prasetyo (2021), menambahkan *Paspalum* sp. mampu memacu jumlah populasi bakteri pada daerah rhizosfer sebab sistem perakarannya lebih banyak, kuat, dan menyebar dalam tanah. Umumnya *Paspalum* sp. memiliki toleran terhadap lingkungan tanah tercemar minyak bumi, bahkan ada yang ditemukan efektif dalam mendegradasi minyak bumi.

Berdasarkan pengukuran pH tanah pada kedua lokasi sampling didapatkan memiliki pH 7 (Lampiran 2). Hal ini mengindikasikan bahwa lokasi sampel termasuk kategori yang cukup ideal untuk bakteri rhizosfer tumbuh sebab jumlah populasi bakteri rhizosfer yang dapat mendegradasi minyak bumi juga dapat dipengaruhi pH tanah. Menurut Amalia *et al.* (2019), aktivitas pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik dipengaruhi oleh pH tanah yang kebanyakan tumbuh optimal pada pH netral sampai dengan pH basa yaitu sekitar pH 6-9. Siti *et al.* (2019), juga menambahkan bahwa bakteri rhizosfer umumnya dapat tumbuh dengan baik pada pH netral berupa 7, meskipun pada pH 5-8 bakteri juga dapat tumbuh.

4.2 Seleksi Bakteri dari Rhizosfer Tumbuhan yang Tercemar Minyak Bumi

Hasil dari 20 isolat bakteri rhizosfer yang telah diisolasi selanjutnya dilakukan seleksi tahap I dan II. Data isolat bakteri rhizosfer yang lolos pada seleksi tahap I dan II dapat disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil seleksi tahap I dan seleksi tahap II bakteri dari rhizosfer tumbuhan yang tercemar minyak bumi

No.	Lokasi Sampling	Σ Isolat Bakteri Sebelum Seleksi	Σ Isolat Bakteri yang Lolos Seleksi Tahap I	Σ Isolat Bakteri yang Lolos Seleksi Tahap II	Kode Isolat
1.	A	12	9	3	A45, A46, A51
2.	B	8	7	-	-

Berdasarkan tabel 4.2 dapat diketahui terdapat 16 isolat bakteri yang lolos seleksi dan ada 4 isolat bakteri yang tidak lolos seleksi tahap I. Isolat bakteri rhizosfer yang lolos seleksi tahap I berupa bakteri yang mampu tumbuh dan bertahan hidup di lingkungan yang mengandung minyak bumi. Akan tetapi, pemanfaatan hidrokarbon yang berasal dari *crude oil* sebagai satu-satunya

sumber karbon dan energi belum tentu dapat dimanfaatkan oleh bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon sebab bakteri masih mendapatkan sumber karbon dan suplai nutrisi yang lengkap dari medium yang digunakan berupa medium Zobell, sehingga selanjutnya perlu dilakukan seleksi tahap II. Menurut Yudono (2013), medium Zobell termasuk medium yang kandungan nutrisinya berlimpah sehingga dapat diasumsikan untuk dapat tumbuh dan bertahan terhadap residu minyak bumi, bakteri juga dapat memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam medium Zobell.

Pada seleksi tahap II seperti yang terdapat dalam tabel 4.2 didapatkan hanya 3 isolat bakteri rhizosfer yang lolos seleksi. Hal ini menandakan bahwa ketiga isolat mempunyai kemampuan dalam memanfaatkan *crude oil* sebagai sumber karbon dan energi ditandai dengan terbentuknya lapisan berwarna putih diantara fase minyak bumi dan fase medium cair sehingga ketiga isolat tersebut dapat diindikasikan sebagai bakteri hidrokarbonoklastik. Menurut Hardestyariki (2020), bakteri hidrokarbonoklastik yang ditumbuhkan pada medium yang nutrisinya sangat sedikit yang terkandung pula ekstrak ragi seperti medium Soeminarti dan ditambahkan *crude oil* akan memanfaatkan ekstrak ragi sebagai sumber karbon utama pada awalnya, namun setelah sumber karbon utama habis akan digunakan hidrokarbon yang terkandung dalam *crude oil* sebagai sumber karbon selanjutnya yang diinduksi oleh gen-gen pengatur enzim untuk menguraikan hidrokarbon.

Isolat bakteri yang lolos seleksi tahap I, namun tidak dapat lolos pada seleksi tahap II dapat disebabkan kemampuan setiap bakteri dalam memanfaatkan senyawa hidrokarbon minyak bumi yang berbeda-beda. Menurut Madonna (2022), minyak bumi mengandung senyawa hidrokarbon kompleks yang bersifat

hidrofobik sehingga mengakibatkan hidrokarbon akan sulit dimetabolisme dan diuraikan oleh bakteri tertentu. Mijaya *et al.* (2019), menambahkan pemanfaatan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi hanya dapat dimanfaatkan oleh bakteri yang bersifat hidrofobik dan mempunyai enzim-enzim tertentu, seperti enzim hidroksilase. Oleh sebab itu, tidak semua bakteri yang mampu bertahan hidup di lingkungan yang tercemar minyak bumi dapat memanfaatkan kandungan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya.

4.3 Biodegradasi Bakteri Hidrokarbonoklastik

Biodegradasi isolat bakteri yang berpotensi bakteri hidrokarbonoklastik dilakukan dengan pengamatan variabel berupa perhitungan populasi bakteri dan pengukuran persentase biodegradasi TPH didapatkan sebagai berikut :

1. Jumlah Populasi Bakteri selama Masa Biodegradasi

Kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon dapat ditunjukkan dengan mengamati pertumbuhan populasi bakteri melalui perhitungan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) yang dapat dilihat dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil jumlah populasi bakteri pada hari ke-0 dan ke-14 inkubasi

Kode Isolat	Jumlah Populasi Bakteri (CFU/mL)	
	Hari ke-0	Hari ke-14
A45	$1,4 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$
A46	$4,1 \times 10^7$	$2,9 \times 10^6$
A51	$0,9 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$

Berdasarkan tabel 4.3. dapat diketahui bahwa jumlah populasi bakteri pada hari ke-0 dan ke-14 inkubasi didapatkan isolat A45 dan A51 tidak mengalami penambahan jumlah populasi yang signifikan atau dapat dikatakan memiliki jumlah populasi yang sama, sedangkan isolat bakteri A46 mengalami penurunan jumlah

populasi. Hal ini dikarenakan setiap bakteri mempunyai fase pertumbuhan sel yang berbeda. Pada isolat A45 dan A51 diindikasikan isolat bakteri mulai mengalami fase stasioner yang ditandai dengan pertumbuhannya yang melambat. Menurut Marsandi dan Estuningsih (2016), ketika berada pada fase stasioner pertumbuhan bakteri akan mulai melambat yang dapat terjadi dikarenakan adanya perubahan pH dan penumpukan produk limbah ataupun faktor lainnya sehingga mengganggu biakan yang berakibat kecepatan pertumbuhan menurun.

Penurunan jumlah populasi isolat A46 pada inkubasi hari ke-14 menandakan isolat bakteri mulai mengalami fase kematian. Menurut Afianti dan Febrian (2020), penurunan jumlah populasi bakteri ketika proses biodegradasi hidrokarbon dapat menunjukkan bahwa adanya kematian sel yang lebih tinggi daripada pertumbuhan sel. Selain itu, menumpuknya senyawa-senyawa dari sisa metabolisme juga dapat bersifat racun bagi bakteri. Bharali *et al.* (2020), menambahkan penurunan jumlah populasi bakteri pada proses biodegradasi minyak bumi disebabkan adaptasi bakteri dalam memanfaatkan senyawa hidrokarbon yang lebih kompleks.

2. Persentase Biodegradasi TPH selama Masa Inkubasi

Hasil kemampuan biodegradasi penurunan TPH dengan isolat yang terindikasi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik selama 14 hari masa inkubasi dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil persentase degradasi TPH

Kode Isolat	Persentase Degradasi TPH		Persentase Kontribusi Isolat Bakteri dalam Mendegradasi TPH
	Hari ke-0	Hari ke-14	
Kontrol	0	19,41	0
Isolat A45	0	31,85	12,44
Isolat A46	0	24,36	4,95
Isolat A51	0	36,67	17,26

Berdasarkan tabel 4.4 diketahui bahwa hasil persentase degradasi *crude oil* dengan adanya penambahan isolat bakteri selama 14 hari masa inkubasi berturut-turut meliputi isolat bakteri A51 sebesar 17,26%, isolat A45 sebesar 12,44%, dan isolat A46 sebesar 4,95%. Kemampuan setiap bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi dengan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dan energi berbeda-beda dapat bergantung dari jenis bakteri serta sifat fisik dan kimia dari minyak bumi. Menurut Ahda dan Fitri (2016), setiap bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam memanfaatkan komponen *crude oil*. Selain itu, proses penguraian hidrokarbon juga dapat dipengaruhi oleh jenis minyak yang diurai dan lingkungan terjadinya penguraian.

Bakteri pendegradasi hidrokarbon melalui aktivitas metabolismenya dapat menghasilkan enzim yang memiliki kemampuan dalam memecah komponen hidrokarbon menjadi karbondioksida, air, dan energi yang kemudian dimanfaatkan bakteri untuk kelangsungan hidupnya. Menurut Sayuti *et al.* (2018), aktivitas enzim bakteri hidrokarbonoklastik menyebabkan perubahan struktur senyawa yang berakibat terjadinya perubahan integritas molekuler dan toksisitas sehingga terjadinya penurunan hidrokarbon. Bakteri ini awalnya akan mendegradasi senyawa hidrokarbon yang lebih sederhana, sedangkan senyawa yang lebih kompleks membutuhkan waktu yang lebih lama dan lebih sulit didegradasi oleh bakteri.

Enzim-enzim yang dapat diproduksi oleh bakteri hidrokarbonoklastik, seperti alkana monooksigenase, alkohol dehidrogenase, dan formaldehid dehidrogenase berperan sebagai biokatalisator untuk reaksi kimia yang terjadi pada bakteri. Menurut Benget dan Retnaningrum (2020), senyawa hidrokarbon akan didegradasi

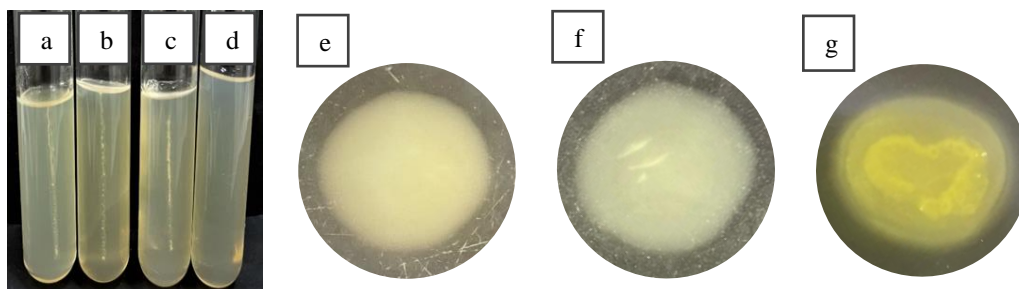
oleh bakteri hidrokarbonoklastik menjadi alkohol dengan memproduksi enzim alkana monooksigenase yang mengubah hidrokarbon menjadi alkohol. Selanjutnya, alkohol akan diubah menjadi aldehid dengan produksi enzim alkohol dehidrogenase oleh bakteri, kemudian aldehid akan menghasilkan asam lemak yang berasal dari produksi enzim formaldehid dehidrogenase yang akhirnya dioksidasi lagi menjadi karbondioksida, air, dan energi untuk pertumbuhan bakteri.

Pada perlakuan kontrol tanpa penambahan isolat bakteri juga terjadi penurunan degradasi hidrokarbon yang disebabkan oleh adanya degradasi secara fisik ataupun kimiawi. Menurut Abena *et al.* (2019), penurunan biodegradasi TPH yang terjadi pada perlakuan tanpa adanya penambahan bakteri bukan dikarenakan adanya aktivitas biologis, melainkan hanya disebabkan oleh penguapan senyawa hidrokarbon minyak bumi yang merupakan pengaruh fisik.

Berdasarkan hasil pengukuran pH medium didapatkan pH awal yaitu 6,5 kemudian setelah 14 hari masa inkubasi pH turun menjadi 6. Penurunan pH ini dapat terjadi dikarenakan produk metabolisme yang dilepaskan isolat bakteri selama berlangsungnya proses biodegradasi hidrokarbon yang berupa asam organik. Seiring dengan meningkatnya aktivitas bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon, maka jumlah asam organik yang dihasilkan juga akan meningkat yang berakibat pH menurun. Menurut Novianty dan Yuharmen (2023), perubahan pH medium termasuk faktor yang dapat mempengaruhi kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik dalam mendegradasi hidrokarbon yang bila pH terlalu asam atau basa dapat menurunkan kemampuan bakteri untuk mendegradasi. pH medium yang optimum untuk pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik berkisar antara 6-8.

4.4 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik

Isolat yang terindikasi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi dalam mendegradasi TPH berupa isolat dengan kode A45, A46, dan A51 memiliki karakter morfologi makroskopis yang beragam yang dapat dilihat pada gambar 4.1.



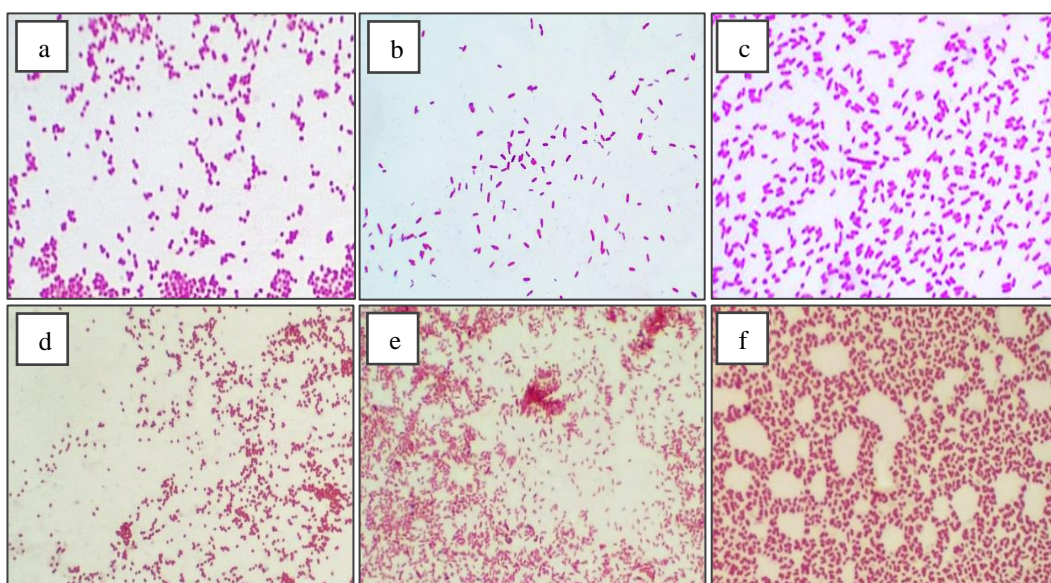
Gambar 4.1. Pengamatan morfologi koloni bakteri hidrokarbonoklastik pada medium NA tegak dan NA lempeng dengan perbesaran 4x

Keterangan :

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| a. Pengamatan NA tegak isolat A51 | e. Pengamatan NA Lempeng isolat A45 |
| b. Pengamatan NA tegak isolat A46 | f. Pengamatan NA Lempeng isolat A46 |
| c. Pengamatan NA tegak isolat A45 | g. Pengamatan NA Lempeng isolat A51 |
| d. Pengamatan NA tegak kontrol | |

Berdasarkan gambar 4.1. diketahui pada medium NA tegak isolat bakteri hidrokarbonoklastik mempunyai bentuk bekas tusukan yang beragam yaitu isolat A45 berbentuk *villous*, sedangkan pada isolat A46 dan A51 berbentuk *echinulate*. Pada medium NA lempeng ketiga isolat bakteri memiliki bentuk koloni *round* dengan tepian *smooth*, elevasi *raised* pada isolat A45 dan A51, sedangkan elevasi *flat* pada isolat A46, serta warna koloni bervariasi. Menurut Sendo *et al.* (2023), pengamatan morfologi bakteri menunjukkan warna, bentuk koloni, tepian koloni, dan elevasi yang berbeda-beda dikarenakan koloni bakteri tersebut berasal dari spesies yang berbeda. Pengamatan morfologi bakteri hidrokarbonoklastik secara makroskopis yang dilakukan Aprilia *et al.* (2020), mengungkapkan koloni bakteri berbentuk *circular* dengan elevasi *raised*, tepian koloni bervariasi, dan koloni berwarna putih, serta pertumbuhan pada medium agar tegak berbentuk *echinulate*.

Pengamatan mikroskopis dilakukan terhadap isolat yang terindikasi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik berupa isolat A45, A46, dan A51 didapatkan bentuk sel yang bervariasi yang dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. Pengamatan mikroskopis sel bakteri dan endospora pada perbesaran 1000x
Keterangan :

- | | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| a. Pewarnaan Gram isolat A45 | d. Pewarnaan endospora isolat A45 |
| b. Pewarnaan Gram isolat A46 | e. Pewarnaan endospora isolat A46 |
| c. Pewarnaan Gram isolat A51 | f. Pewarnaan endospora isolat A51 |

Berdasarkan gambar 4.2. diketahui isolat bakteri A45 mempunyai bentuk sel kokus, berbeda dengan isolat bakteri A46 dan A51 memiliki bentuk sel basil, namun ketiga isolat bakteri tersebut menunjukkan sifat Gram positif yang ditandai dengan sel yang berwarna ungu, serta tidak memiliki endospora yang ditandai tidak terdapat endospora bebas berwarna hijau. Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal dan mengandung asam lipoteikoat dan asam teikoat yang dapat mengikat zat warna ungu. Menurut Eryah *et al.* (2023), bakteri Gram positif apabila berada pada lingkungan yang ekstrim akan beradaptasi dengan menebalkan dinding selnya sehingga dapat mencegah senyawa berbahaya yang mengancam kelangsungan hidupnya masuk. Bakteri hidrokarbonoklastik umumnya didominasi

bakteri Gram positif sebab dengan dinding selnya yang tebal dapat mencegah masuknya senyawa yang bersifat toksik bagi sel bakteri sehingga dapat tumbuh dan bertahan hidup di lingkungan yang tercemar minyak bumi.

Hasil karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi dalam mendegradasi TPH juga dilakukan secara fisiologis yang disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Hasil karakterisasi morfologi dan fisiologis Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik

	Karakter	Kode isolat		
		A45	A46	A51
Makroskopis	Pertumbuhan Agar Tegak	<i>Villous</i>	<i>Echinulate</i>	<i>Echinulate</i>
	Pertumbuhan pada Agar Lempeng			
	• Bentuk Koloni	<i>Round</i>	<i>Round</i>	<i>Round</i>
	• Elevasi	<i>Raised</i>	<i>Flat</i>	<i>Raised</i>
	• Tepian Koloni	<i>Smooth</i>	<i>Smooth</i>	<i>Smooth</i>
Mikroskopis	• Warna koloni	Krem	Putih susu	Putih kekuningan
	Pertumbuhan pada Media Cair	Anaerob fakultatif	Anaerob fakultatif	Anaerob Fakultatif
	Bentuk Sel	Kokus	Basil	Basil
	Sifat Gram	Positif	Positif	Positif
	Endospora	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Uji Fisiologis	Uji Katalase	+	+	+
	Uji Motilitas	+	+	-
	Uji Indol	-	-	-
	Uji H ₂ S	-	-	-
	Uji Methyl Red	+	+	+
	Uji Simmon Sitrat	+	+	+
	Uji Voges-Proskauer	+	+	+
	Uji Fermentasi Gula (Glukosa)	+	+	+
	Uji Fermentasi Gula (Laktosa)	+	+	+
	Uji Fermentasi Gula (Sukrosa)	+	+	+
	Uji Urea	-	-	-
	Uji Hidrolisis Pati	-	-	-
	Uji Gelatin	+	+	+
Genus	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Corynebacterium</i>	

Keterangan : (+) : Positif (-) : Negatif

Hasil pengamatan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium *Nutrient Broth* didapatkan isolat bakteri A45, A46, dan A51 bersifat anaerob fakultatif diindikasikan dengan adanya pertumbuhan yang tersebar dalam medium. Bakteri anaerob fakultatif dalam pertumbuhannya dapat bertahan dalam kondisi oksigen terbatas. Menurut Karyawati *et al.* (2023), umumnya bakteri hidrokarbonoklastik bersifat aerob dan anaerob fakultatif. Bakteri anaerob fakultatif dapat tumbuh dan mampu bertahan hidup dengan respirasi anaerob untuk memperoleh energi meskipun dalam kondisi terkontaminasi hidrokarbon yang sering kali ketersediaan oksigennya terbatas dan dengan kemampuannya ini bakteri juga dapat melakukan proses biodegradasi hidrokarbon dalam kondisi anaerobik dimana bakteri aerob mungkin tidak dapat bertahan hidup.

Berdasarkan hasil uji fisiologis pada uji katalase yang dilakukan didapatkan terbentuknya gelembung gas ketika diteteskan dengan H_2O_2 yang mengindikasikan hasil positif pada ketiga isolat bakteri yang berarti bakteri dapat menghasilkan enzim katalase. Menurut Rini *et al.* (2020), katalase berupa enzim yang dimiliki oleh bakteri yang berperan dalam proses pemecahan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Bakteri hidrokarbonoklastik yang bersifat aerob atau anaerob fakultatif yang menggunakan oksigen akan menghasilkan hidrogen peroksida yang bagi sistem enzimnya dapat bersifat toksik, namun dengan adanya enzim katalase maka hidrogen peroksida dapat terurai sehingga bakteri tetap mampu tumbuh.

Uji motilitas bakteri hidrokarbonoklastik pada isolat bakteri A45 dan A46 menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terdapat pertumbuhan bakteri yang menyebar dalam medium dikarenakan adanya alat gerak, sedangkan pada isolat

bakteri A51 menunjukkan hasil negatif sebab hanya terdapat pertumbuhan bakteri pada sekitar tusukan yang menandakan bakteri tidak memiliki flagel. Menurut Kusnaa (2022), bakteri hidrokarbonoklastik dapat bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrem dikarenakan kemampuan bakteri yang bersifat motil. Selain itu, selama proses biodegradasi hidrokarbon bakteri motil dapat beradaptasi terhadap lingkungan yang berbeda dan sumber hidrokarbon yang diperoleh dapat lebih banyak sehingga cakupan biodegradasi lebih luas. Namun, bakteri nonmotil juga dapat tumbuh dan bertahan hidup serta mendegradasi hidrokarbon dengan lebih efektif apabila memiliki enzim yang lebih spesifik dalam menguraikan senyawa hidrokarbon dan berada di lingkungan yang lebih stabil.

Uji H₂S pada isolat bakteri A45, A46, dan A51 menunjukkan hasil negatif yang menandakan ketiga isolat bakteri tidak mampu menghasilkan hidrogen sulfida. Uji *methyl red* mengindikasikan hasil positif yang berarti bakteri dapat menghasilkan asam, serta pada uji *voges-proskauer* juga menunjukkan hasil positif yang mengindikasikan bakteri menghasilkan asetil metil karbinol dari proses fermentasi medium MR-VP yang mengandung glukosa. Sementara, uji simmon sitrat menunjukkan hasil positif yang menandakan bahwa isolat bakteri mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Menurut Suratni *et al.* (2015), bakteri hidrokarbonoklastik disamping memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan dan aktivitas biodegradasinya, juga memanfaatkan sitrat sebagai salah satu sumber karbon.

Uji fermentasi gula glukosa, laktosa, dan sukrosa pada isolat bakteri A45, A46, dan A51 memperoleh hasil positif yang ditandai dengan terjadinya perubahan

warna medium dari merah menjadi kuning tanpa mengalami pembentukan gas. Pada bakteri hidrokarbonoklastik karbohidrat seperti glukosa dapat menjadi salah satu sumber karbon dan energi tambahan dalam medium pertumbuhan bakteri yang dibutuhkan bakteri untuk tetap bertahan hidup yang kemudian dapat meningkatkan aktivitas bakteri dalam menguraikan hidrokarbon. Menurut Abubakar *et al.* (2020), uji fermentasi gula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi berbagai gula, seperti glukosa, laktosa dan sukrosa untuk menentukan jenisnya. Setiap bakteri memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam memfermentasi gula sebagai sumber energinya.

Isolat bakteri A45, A46, dan A51 menunjukkan hasil negatif pada uji hidrolisis urea dan hidrolisis pati menandakan isolat bakteri tidak mampu menghasilkan enzim urease dan enzim amilase. Pada uji hidrolisis gelatin menunjukkan hasil positif yang mengindikasikan isolat mampu menghidrolisis gelatin. Menurut Asri dan Pratiwi (2022), bakteri mampu memecah gelatin dikarenakan bakteri dapat menghasilkan enzim proteolitik yang disebut gelatinase. Asam amino yang didapat dari hasil hidrolisis bakteri melalui pemanfaatan nutrisi gelatin dengan cara menghancurkan jaringan kolagen yang memiliki banyak asam amino sehingga digunakan sebagai sumber nutrisi. Bakteri hidrokarbonoklastik yang memiliki enzim gelatinase dapat memecah protein gelatin menjadi asam amino dan peptida yang dapat dimanfaatkan bakteri sebagai sumber nutrisi dan energi dalam mendegradasi hidrokarbon sehingga kemampuan biodegradasinya lebih efektif daripada bakteri yang tidak memiliki enzim gelatinase.

Berdasarkan hasil karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis diketahui bahwa isolat bakteri A45 mempunyai kemiripan terhadap genus *Enterococcus*. Hasil pencocokan karakterisasi dengan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th & 9th edition* menunjukkan *Enterococcus* memiliki ciri-ciri berupa berbentuk bulat berpasangan atau berantai pendek, bersifat anaerob fakultatif, tidak memiliki endospora, merupakan bakteri Gram positif yang bersifat motil dan dapat memfermentasi berbagai macam gula namun tidak terdapat gas. Ismail *et al.* (2017), menambahkan morfologi koloni yang dimiliki bakteri *Enterococcus* berbentuk bundar, tepian licin, elevasi cembung, dan berwarna krem.

Isolat bakteri A45 yang mempunyai kemiripan karakter dengan genus *Enterococcus* dapat mendegradasi TPH sebesar 31,85%. Rahayu *et al.* (2019), juga berhasil mengisolasi bakteri *indigenous* yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon dari tanah tercemar minyak di daerah penambangan minyak di Bojonegoro, Jawa Timur yang teridentifikasi *Enterococcus* sp. dengan persentase biodegradasi TPH sebesar 75% dengan karakteristik meliputi sel bakteri berbentuk kokus, Gram positif, bersifat motil, pada uji produksi H₂S dan uji indol menunjukkan reaksi negatif, sedangkan pada uji simmon sitrat, uji voges-proskauer dan uji fermentasi gula menunjukkan reaksi positif. Hal ini menginformasikan bahwa bakteri dengan genus *Enterococcus* termasuk bakteri hidrokarbonklastik, sementara perbedaan persentase biodegradasi TPH yang didapatkan pada penelitian ini disebabkan perbedaan sumber bakteri yang diperoleh.

Berdasarkan hasil karakteristik secara makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis isolat bakteri A46 diketahui termasuk dalam genus *Lactobacillus* yang

memiliki kecocokan terhadap buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th & 9th edition* yang menyatakan genus *Lactobacillus* memiliki karakter sel berbentuk batang, Gram positif, tidak terdapat endospora, bersifat anaerob fakultatif, motil, dan menghasilkan gelembung gas pada uji katalase. Selaras dengan hasil penelitian yang diperoleh oleh Batubara *et al.* (2022), ciri karakter yang dimiliki bakteri genus *Lactobacillus* berupa sel berbentuk batang, tidak memiliki endospora, Gram positif, sebagian besar tumbuh anaerob, uji indol dan uji H₂S negatif, serta dapat memfermentasi gula. Annisa *et al.* (2024), menambahkan secara makroskopis bakteri *Lactobacillus* berbentuk *circular* (bulat), tepian *entire (smooth)* dengan elevasi *flat* dan memiliki warna putih.

Isolat bakteri A46 berdasarkan hasil karakterisasi mempunyai kecocokan dengan genus *Lactobacillus*. Ommena *et al.* (2023), dalam penelitiannya juga melakukan isolasi bakteri pada tanah tercemar minyak bumi di Nigeria berhasil mendapatkan isolat bakteri yang teridentifikasi *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus nagelii* yang merupakan bakteri hidrokarbonoklastik dan termasuk bakteri yang potensial dalam bioremediasi pencemaran oleh hidrokarbon. Hal ini menandakan bahwa *Lactobacillus* termasuk bakteri hidrokarbonklastik yang dapat dikatakan juga mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi.

Berdasarkan hasil karakteristik secara makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis isolat bakteri A51 diketahui termasuk genus *Corynebacterium* yang memiliki kemiripan setelah dicocokkan dengan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th & 9th edition* yang diketahui bahwa bakteri genus *Corynebacterium* mempunyai sel berbentuk batang lurus atau sedikit

melengkung, Gram positif, nonmotil, tidak memiliki spora, dapat memfermentasi gula, dan bersifat anerob fakultatif. Selaras dalam penelitian yang didapatkan oleh Duhu *et al.* (2022), secara makroskopis bakteri *Corynebacterium* mempunyai bentuk *circular* dengan tepian *entire (smooth)* dan berwarna putih kekuningan. Sementara itu, secara mikroskopis dan fisiologis bakteri *Corynebacterium* memiliki sel berbentuk basil, termasuk Gram positif, dan dapat memfermentasi gula, serta menghasilkan enzim katalase.

Isolat bakteri A51 berdasarkan hasil karakterisasi memiliki kemiripan dengan genus *Corynebacterium*. Ibrahim dan Ijah (2014), menyatakan biodegradasi minyak bumi yang diisolasi dari rhizosfer *Lablab purpureus*, *Moringa oleifera* dan *Eucalyptus camaldulensis* didapatkan isolat bakteri yang mampu mendegradasi minyak teridentifikasi sebagai *Lactobacillus casei*, *Corynebacterium hotmanii*, *Enterococcus gallinerum*, *Corynebacterium ovis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, dan *Listeria murrayi*. Selvam dan Thatheyus (2018), dalam penelitiannya juga berhasil mengisolasi sembilan bakteri yang berpotensi dalam mendegradasi minyak bumi yang salah satunya teridentifikasi sebagai *Corynebacterium* sp. Hal tersebut menandakan bahwa *Corynebacterium* termasuk dalam bakteri hidrokarbonklastik yang berpotensi dalam biodegradasi hidrokarbon minyak bumi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Bakteri hidrokarbonoklastik yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon didapatkan sebanyak 3 isolat dengan kode A45, A46, dan A51 yang berasal dari *Paspalum* sp. yang mendominasi di sekitar tanah tercemar minyak bumi.
2. Masing-masing isolat yang terindikasi bakteri hidrokarbonoklastik memiliki potensi menurunkan total petroleum hidrokarbon (TPH) dengan persentase biodegradasi meliputi isolat A51 sebesar 17,26%, isolat A45 sebesar 12,44%, dan isolat A46 sebesar 4,95%.
3. Hasil identifikasi isolat bakteri A45 memiliki kemiripan dengan genus *Enterococcus*, isolat A46 memiliki kemiripan dengan genus *Lactobacillus*, dan isolat A51 memiliki kemiripan dengan genus *Corynebacterium*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, maka saran yang dapat diberikan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan tahap seleksi lanjutan terhadap ketiga isolat yang terindikasi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik dengan menggunakan medium selektif.

2. Perlu dilakukan analisis hasil biodegradasi total petroleum hidrokarbon (TPH) yang lebih baik lagi dengan menggunakan metode GC-MS (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) terhadap ketiga isolat yang terindikasi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik.
3. Perlu dilakukan identifikasi untuk melengkapi data identifikasi ketiga isolat yang terindikasi sebagai bakteri hidrokarbonoklastik dari rhizosfer *Paspalum* sp. yang tumbuh di tanah tercemar minyak bumi dan untuk mengetahui jenis spesiesnya melalui pendekatan molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdila, A., Agustin, N., Hafni, W., Japarang, N., Jumadi, O., dan Junda, M. (2022). Populasi Mikroorganisme Tanah pada Lahan Jagung setelah Aplikasi Pupuk Poliakrilat. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 27 (1) : 8-21.
- Abena, M. T. B., Li, T., Shah, M. N., dan Zhong, W. (2019). Biodegradation of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Highly Contaminated Soils by Natural Attenuation and Bioaugmentation. *Chemosphere*. 234 (1) : 864-874.
- Abena, M. T. B., Sodbaatar, N., Li, T., Choidash, B., dan Zhong, W. (2019). Crude Oil Biodegradation by Newly Isolated Bacterial Strains and Their Consortium under Soil Microcosm Experiment. *Applied biochemistry and biotechnology*. 189 (1) : 1223-1244.
- Abubakar, Y., Widayat, H. P., Muzaifa, M., dan Mega, F. A. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Asetat Dari Fermentasi Kakao Aceh. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. 24 (1) : 23-28.
- Afianti, N. F., dan Febrian, D. (2020). Potensi Degradasi Minyak oleh Konsorsium Bakteri dari Sedimen Mangrove Bintan. *Prosiding Industrial Research Workshop and National Seminar*. 11 (1) : 725-729.
- Ahda, Y., dan Fitri, L. (2017). Karakterisasi Bakteri Potensial Pendegradasi Oli Bekas pada Tanah Bengkel di Kota Padang. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 8 (2) : 98-103.
- Ahmed, F., dan Fakhruddin, A. N. M. (2018). A Review on Environmental Contamination of Petroleum Hydrocarbons and its Biodegradation. *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*. 11 (3) : 1-7.
- Ainul, A., Eko, P., dan Muhammad, H. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Asal Limbah Cair Perbengkelan. *Jurnal Ilmu Perairan*. 9 (1) : 31-37.
- Akhmaddhian, S., dan Hanipah, P. (2021). Penegakan Hukum terhadap Tindak Pidana Pencemaran Tanah Akibat Limbah Industri. *Jurnal Penelitian Universitas Kuningan*. 12 (02) : 192-200.
- Amalia, A., Nugraha, F. S., dan Ali, M. (2019). Penggunaan Kompos Tanaman dan Pupuk Hayati Yang Mengandung Pseudomonas Untuk Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Envirotek*. 11 (1) : 17-24.

- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., dan Amelia, P. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 5 (1) : 253-257.
- Ambarsari, H., Asriyani, L., dan Ridlo, A. (2020). Isolasi dan Produktivitas Bakteri Ureolitik dari Sedimen Muara Sungai Citarum. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 21 (2) : 147-156.
- Angraeni, L., Rasyidah, R., dan Mayasari, U. (2023). Isolasi dan Identifikasi Azotobacter dari Rhizosfer Tanaman Jagung (*Zea mays* l.) di Desa Sei Mencirim Kecamatan Sunggal Kabupaten Deli Serdang. *Biology Education, Sains and Technology Journal*. 6 (2) : 338-344.
- Annisa, R., Manalu, K., dan Nasution, R. A. (2024). Screening of Antimicrobial Producing Bacteria from Berawe Beach Sand on Kampai Pangkalan Susu Island against Pathogenic Bacteria. *Jurnal Biologi Tropis*. 24 (1) : 16-25.
- Apriliya, I., Dewi, A. K., dan Pradana, N. T. (2020). Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Oli Dari Tanah Tercemar Hidrokarbon Dan Rhizosfer Tanaman. *Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*. 6 (2) : 9-21.
- Arief, T., Nukman, N., Ibrahim, E., Tanzerina, N., dan Gobel, A. P. (2023). Bimbingan Teknis Terhadap Penambang Sumur Minyak Ilegal di Dusun Keban I Kecamatan Sanga Desa Kabupaten Musi Banyuasin Sumatera Selatan. *Prima Abdika: Jurnal Pengabdian Masyarakat*. 3 (1) : 65-73.
- Asri, M. T., dan Pratiwi, W. M. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenous Pendegradasi Pestisida Profenofos dan Klorantraniliprol di Jombang Jawa Timur. *Berkala Ilmiah Biologi*. 11 (2) : 300-309.
- Astuti, A. D., dan Titah, H. S. (2021). Studi Fitoremediasi Polutan Minyak Bumi di Wilayah Pesisir Tercemar Menggunakan Tumbuhan Mangrove. *Jurnal Teknik ITS*. 9 (2) : 111-116.
- Aviantara, D. B., dan Suryati, T. (2021). Aplikasi Teknologi Desorpsi Termal untuk Remediasi Tanah Tercemar Minyak: State of the Art. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*. 4 (2) : 119-134.
- Batubara, U. M., Suparjo, S., Maritsa, H. U., Pujiyanto, E., dan Herlini, M. (2022). Screening and Determination of Potential Cellulolytic Bacteria from Mangrove Ecosystem. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 27 (2) : 264-271.
- Benget, V. V., dan Retnaningrum, E. (2020). Activities and Molecular Characterization of Petroleum Hydrocarbons Degrading Rhizobacteria from Mangrove Plants (*Rhizophora* sp.) in Kulon Progo, Yogyakarta, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21 (1) : 211-27.

- Bharali, P., Bashir, Y., Ray, A., Dutta, N., Mudoi, P., dan Konwar, B. K. (2022). Bioprospecting of Indigenous Biosurfactant-Producing Oleophilic Bacteria for Green Remediation: an Eco-Sustainable Approach for the Management of Petroleum Contaminated Soil. *Biotech.* 12 (1) : 13-19.
- Cahyani, C. N., Ismayana, A., dan Yani, M. (2022). Crude Oil Biodegradation Potential using *Acinetobacter baumannii* CYA20 and *Bacillus subtilis* CYA27 from the Bekasi Coast, Indonesia. *Journal of Biosciences.* 29 (5) : 701-711.
- Cappuccino, J. G., dan Welsh, C. 2017. *Microbiology: A Laboratory Manual 11th Edition.* England : Pearson Education Limited.
- Chen, S., dan Zhong, M. (2019). Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil. *Environmental Chemistry and Recent Pollution Control Approaches.*34 (1) : 1-12.
- Devatha, C. P., Vishnu, A. V., dan Rao, J. P. C. (2019). Investigation of Physical and Chemical Characteristics on Soil due to Crude Oil Contamination and its Remediation. *Applied Water Science.* 9 (1) : 1-10.
- Duhu, C. D., Pani, E., Semiun, C.G., dan Mamulak, Y.I. (2022). Karakterisasi Bakteri Akar Padi Sawah (*Oryza sativa* L.) Desa Noelbaki, Kabupaten Kupang. *Jurnal Pendidikan dan Sains Biologi.* 5 (1) : 15-24.
- Ehis-Eriakha, C. B., Akaranta, O., dan Chikere, C. B. (2020). Functional Gene Diversity of Selected Indigenous Hydrocarbon-Degrading Bacteria in Aged Crude Oil. *International Journal of Microbiology.* 21 (4) : 1-11.
- Eryah, H. P., Dilak, H. I., dan Finit, E. (2023). Isolasi dan Identifikasi Mikroba Tanah Limbah di Kota Kupang. *Flobamora Biological Journal.* 2 (1) : 18-28.
- Estuningsih, S. P., dan Yudono, B. (2013). Bacteria Exploration Indigen as Microbial Enhance Oil Recovery (MEOR) in Old Wells (Abandon well) in PT Pertamina UBEP Lemons Muara Enim. *Prosiding Seminar Nasional Added Value of Energy Resources.* 1 (1) : 254-259.
- Fatahillah, B. A., Irawan, A. B., dan Wicaksono, A. P. (2023). Indeks Pencemaran Air Permukaan Pada Kawasan Sumur Tua Minyak Bumi Di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro, Provinsi Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Lingkungan Kebumihan.* 4 (1) : 97-101.
- Febriani, I., Advinda, L., Handayani, D., Farma, S. A., dan Putri, D. H. (2023). Asosiasi *Pseudomonad fluoresen* pada Rizosfir Tanaman. *Jurnal Serambi Biologi.* 8 (2) : 117-122.

- Fuad, M., Anugrah, R. I., Herlina, L., dan Setiawan, D. I. (2022). Pengembangan Metode Identifikasi Karakteristik Minyak Berat Hasil Ekstraksi Oil Sand Iliran High Dengan Formula Perhitungan Berdasarkan Komposisi Elementer. *Lembaran publikasi minyak dan gas bumi*. 56 (2) : 99-109.
- Gofar, N. (2011). Characterization of Petroleum Hydrocarbon Decomposing Fungi Isolated from Mangrove Rhizosphere. *Journal of Tropical Soils*. 16 (1) : 39-45.
- Gofar, N. (2012). Aplikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik Asal Rizosfer Mangrove pada Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Lahan Suboptimal: Journal of Suboptimal Lands*. 1 (2) : 123-129.
- Handrianto, P. (2018). Mikroorganisme Pendegradasi TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) Sebagai Agen Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal SainHealth*. 2 (2) : 35-42.
- Hardestyariki, D., dan Yudono, B. (2020). Uji Kemampuan Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik sebagai Agen Bioremediasi. *Sriwijaya Bioscientia*. 1 (1) : 8-15.
- Hardestyariki, D., Yudono, B., dan Munawar. (2013). Eksplorasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Rhizosfer di Lahan Tambang Minyak Rakyat, Kecamatan Babat Toman, Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 16 (3) : 78-85.
- Hardestyariki, D., Yudono, B., dan Munawar. (2021). Synergism between Rhizosphere Bacteria Isolates from *Scleria* sp., *Clidemia* sp., and *Panicum* sp. to Increase the Effectiveness of Mixed Cultures in Hydrocarbon Biodegradation. *Biological Research Journal*. 7 (2) : 61-65.
- Hoang, S. A., Lamb, D., Seshadri, B., Sarkar, B., Choppala, G., Kirkham, M. B., dan Bolan, N. S. (2021). Rhizoremediation as a Green Technology for the Remediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soils. *Journal of Hazardous Materials*. 401 (1) : 1-22.
- Hussain, I., Puschenreiter, M., Gerhard, S., Schöftner, P., dan Reichenauer, T. G. (2018). Rhizoremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soils: Improvement Opportunities and Field Applications. *Environmental and Experimental Botany*. 147 (1) : 202-219.
- Huyyirnah, H., dan Rosmaniar, R. (2021). Modifikasi Medium Menggunakan *Saline-Water Soluble Fraction* (SSF) atau Fraksi Minyak Terlarut untuk Menumbuhkan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *Indonesian Journal of Laboratory*. 4 (2) : 72-81.

- Ibok, U. J., dan Ite, A. E. (2019). Role of Plants and Microbes in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons Contaminated. *International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation*. 7 (1) : 1-19.
- Ibrahim, M. L., dan Ijah, U. J. J. (2014). Biodegradation of Crude Oil by Rhizosphere Microorganisms. *Advances In Environmental Research*. 35 (1) : 153-172.
- Imam, A., Ghosh, D., Kanaujia, P. K., dan Suman, S. K. (2019). Analytical Approaches used in Monitoring the Bioremediation of Hydrocarbons in Petroleum-Contaminated Soil and Sludge. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 118 (1) : 50-64.
- Irawan, T. B., Soelaksini, L. D., dan Nuraisyah, A. (2022). The Respon Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Pemberian Berbagai Konsentrasi PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) Akar Kakao. *Jurnal Ilmiah Hijau Cendekia*. 7 (1) : 7-17.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., dan Putriani, P. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*. 1 (2) : 45-53.
- Karyawati, A.T., Mauboy, R. S., Amalo, D., Ruma, T. L. M., Momo, A. N., dan Pada, B. A. 2023. Karakteristik Bakteri Pendegradasi pada Tanah yang Tercemar Oli di Lokasi Perbengkelan Otomotif Kota Mbay Kabupaten Nagekeo. *Jurnal Biotropikal Sains*. 20 (2) : 84-91.
- Kebede, G., Abda, E. M., Assefa, F., Tafese, T., dan Kamaraj, M. (2021). Factors Influencing the Bacterial Bioremediation of Hydrocarbon Contaminants in the Soil: Mechanisms and Impacts. *Journal of Chemistry*. 1 (1) : 1-17.
- Khastini, R. O., Rozma, R. A., Saputri, Y. A., dan Zahranie, L. R. (2022). Peranan Bakteri Pendegradasi Senyawa Pencemar Lingkungan melalui Proses Bioremediasi. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 10 (1) : 345-360.
- Khudur, L. S., Shasavari, E., Webster, G. T., Nugagoda, D., dan Ball, A. S. (2019). The Impact of Lead Co-Contamination on Ecotoxicity and the Bacterial Community during the Bioremediation of Total Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soils. *Environmental Pollution*. 253 (1) : 939-948.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., dan Sudewi, S. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*. 8 (2) : 351-359.

- Kumar, V., Al-Momin, S., Al-Aqeel, H., Al-Salameen, F., Nair, S., dan Shajan, A. (2018). Metagenomic Analysis of Rhizosphere Microflora of Oil-Contaminated Soil Planted with Barley and Alfalfa. *PLoS One*. 13 (8) : 1-16.
- Madonna, S. (2022). Tinjauan Singkat Bio-Elektrokinetik Remediasi pada Tanah Tercemar Hidrokarbon Minyak Bumi. *Jurnal Reka Lingkungan*. 10 (3) : 175-187.
- Marsandi, F., dan Estuningsih, S. P. (2016). Asosiasi Konsorsium Bakteri *Pseudomonas Pseudoalcaligenes* dan *Micrococcus Luteus* dengan Lamtoro (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) De Wit) dalam Upaya Meningkatkan Bioremediasi Minyak Bumi. *Proceeding Biology Education Conference*. 13 (1) : 807-813.
- Martiningsih, S. T., dan Rahmi, S. U. (2019). Efektifitas Bakteri Indigenous Limbah Cair Batik untuk Dekolorisasi Sisa Pencelupan Tekstil dengan Zat Warna Remazol Blue. *Jurnal Teknologika*. 9 (2) : 1-7.
- Mijaya, M. R. S., Yanti, N. A., dan Muhiddin, N. H. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Pendegradasi Solar dari Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Penelitian Biologi*. 6 (2) : 995-1006.
- Muzayana, F. U., dan Hariani, S. (2019). Analisis Warna, Bau dan pH Air di sekitar Tempat Pembuangan Akhir II Karya Jaya Musi 2 Palembang. *Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*. 3(1) : 16-19.
- Nabila, R., Purnamasari, C. B., dan Alhawaris, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* blume) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan Metode Disc Diffusion. *Jurnal Kedokteran Mulawarman*. 8 (2) : 64-72.
- Nkiru, U. C., Chijioke, O. G., Moses, I., Chinyelu, N. H., dan Ijeoma, C. U. C. (2019). Role of Plant-Microbe Interactions in Rhizoremediation of Petroleum Product-Polluted Nigerian Soils. *Microbiology*. 5 (2) : 36-47.
- Novianty, R., Awaluddin, A., dan Pratiwi, N. W. (2020). Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi di Kabupaten Siak Provinsi Riau. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 9 (1) : 34-40.
- Novianty, R., dan Yuharmen, Y. (2023). Biodegradasi Hidrokarbon Crude Oil Di Kawasan PT. Bumi Siak Pusako-Pertamina Hulu Menggunakan Konsorsium Bakteri Indigen. *Jurnal Sain dan Kesehatan*. 13 (2) : 83-89.
- Nuryanti, S., Fitriana, F., dan Pratiwi, A. R. (2021). Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Selulosa Dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 13 (1) : 71-79.

- Nwachukwu, B. C., Ayangbenro, A. S., dan Babalola, O. O. (2021). Elucidating the Rhizosphere Associated Bacteria for Environmental Sustainability. *Agriculture*. 11 (1) : 75.
- Omenna, E. C., Omege, K., Ezaka, E., dan Azeke, M. A. (2023). Tolerance, Taxonomic and Phylogenetic Studies of Some Bacterial Isolates Involved in Bioremediation of Crude Oil Polluted Soil in the Southern Region of Nigeria. *Heliyon*. 9 (4) : 1-14.
- Panjaitan, F. J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., dan Indriyani, W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*. 1 (1) : 9-17.
- Pourbabaee, A. A., Khazaei, M., Alikhani, H. A., dan Emami, S. (2021). Root Nodulation of Alfalfa by *Ensifer meliloti* in Petroleum Contaminated Soil. *Rhizosphere*. 17 (1) : 100305.
- Prasetyo, R. A. (2021). Review Jurnal Teknologi Fitoremediasi Untuk Pemulihan Lahan Tercemar Minyak. *Jurnal Ilmiah Teknik Perminyakan*. 10 (2) : 53-59.
- Rahayu, A. S., dan Gumilar, H. M. (2017). Uji Cemar Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal Pharmaceutical Science and Technology*. (4) 2: 50-56.
- Rahayu, Y. S., Guntur, T., dan Yuliani. (2019). Isolation and Identification of Hydrocarbon Degradation Bacteria and Phosphate Solubilizing Bacteria in Oil Contaminated Soil in Bojonegoro, East Java, Indonesia. *Indonesian Journal of Science and Technology*. 4 (1) : 134-147.
- Rahmawati, L., Adlina, S., dan Yuliana, A. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Protease Ekstraseluler dari Limbah Cair Tahu Putih. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 21 (2) : 187-193.
- Ratni, N. J. A. R., dan Kautsar, D. S. (2021). Bioremediasi Tanah Tercemar Hidrokarbon dengan Metode Biostimulasi di Woncolo, Bojonegoro. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 2 (1) : 60-66.
- Rini, I. A., Oktaviani, I., Asril, M., Agustin, R., dan Frima, F. K. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil IAA (Indole Acetic Acid) dari Rhizosfer Tanaman Akasia (*Acacia Mangium*). *Agricultural Journal*. 3(2) : 210-219.
- Rosmania, R., dan Yanti, F. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22 (2) : 76-86.

- Saeed, M., Ilyas, N., Arshad, M., Sheeraz, M., Ahmed, I., dan Bhattacharya, A. (2021). Development of a Plant Microbiome Bioremediation System for Crude Oil Contamination. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 9 (4) : 105401.
- Safitri, E., Hidayati, N. A., dan Hertati, R. (2019). Prevalensi Bakteri *Salmonella* Pada Ayam Potong yang Dijual di Pasar Tradisional Pangkalpinang. *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 4 (1) : 25-30.
- Salihat, I., Lambui, O., dan Pitopang, R. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M Perry.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Biocelbes*. 14 (2) : 119-129.
- Salsabilla, K. N., dan Trimulyono, G. (2022). Isolasi dan Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat dari Tape Pisang Kepok terhadap *Escherichia coli*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 11 (3) : 430-440.
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. D. C., dan Glick, B. R. (2021). Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Biology*. 10 (6) : 475.
- Sari, M. A., dan Retnaningrum, E. (2019). Hydrocarbon Degradation by Bacteria from Rhizospheres of *Imperata cylindrica* at Oil Mining Site in Wonocolo, Bojonegoro, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 20 (11) : 3422-3429.
- Sayuti, I., Siregar, Y. I., Amin, B., dan Agustien, A. (2018). Skrining Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Peningkatan Degradasi Minyak Bumi dari Gas Bootpetapahan, Riau. *Jurnal Pelestarian Lingkungan*. 1 (1) : 303-309.
- Selvam, A.D.G., dan Thatheyus, A. J. (2018). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons. *Microbial Action on Hydrocarbons*. 1 (1) : 485-503.
- Sendo, M. L., Mantiri, F. R. dan Rumondor, M. J. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Potensial Pendegradasi Oli Mesin Bekas Dari Beberapa Lokasi Bengkel di Kota Manado. *Jurnal Pharmacon*. 11 (1) : 1222-1230.
- Setiawan, B. (2021). Activity of Fruit and Leave Juice of Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) against Dandruff-Causing Fungi. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Research*. 1 (2) : 33-37.
- Siti, P., Ismed, I., dan Euis, A. (2019). Pengaruh Aplikasi Pupuk Hayati Terhadap Dinamika Kelimpahan Mikrob Pada Lahan Bekas Tambang Timah Yang Ditanami Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.). *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*. 21 (2) :51-57.

- Stepanova, A. Y., Gladkov, E. A., Osipova, E. S., Gladkova, O. V., dan Tereshonok, D. V. (2022). Bioremediation of Soil From Petroleum Contamination. *Processes*. 10 (6) : 1224.
- Sugianto, S. K., Shovitri, M., dan Hidayat, H. (2019). Potensi Rhizobakteri Sebagai Pelarut Fosfat. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 7 (2) : 71-74.
- Sugito, H., Binu, Q. M., dan Khumaeni, A. (2020). Detection of Heavy Metal Containment of Soil Pollution due to Waste of Paper Industry using Nd: YAG Laser Induced Breakdown Spectroscopy. *Journal of Physics*. 1428 (1) : 1-6.
- Suratni, S., Sayuti, I. S., dan Wulandari, S. W. (2015). Identifikasi Bakteri Dari Limbah Cair Minyak Bumi Sebagai Modul Pembelajaran Konsep Prokariot Pada Mata Kuliah Mikrobiologi Dasar. *Skripsi*. Riau : Universitas Riau.
- Suryati, T. 2015. Seleksi Lima Jenis Rumput untuk Fitoremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal teknologi lingkungan*. 16 (1) : 31-36.
- Susanti, W. I., dan Trinanda, R. (2017). Potensi Bakteri Asal Tanah Rizosfer, Sedimen Tanah, dan Pupuk Kandang Sapi Untuk Biodegradasi Minyak Berat dan Oli Bekas. *Jurnal Tanah dan Iklim*. 41 (1) : 37-44.
- Viesser, J. A., Sugai-Guerios, M. H., Malucelli, L. C., Pincerati, M. R., Karp, S. G., dan Maranhão, L. T. (2020). Petroleum-tolerant Rhizospheric Bacteria: Isolation, Characterization and Bioremediation Potential. *Scientific Reports*. 10 (2060) : 1-11.
- Wagiono, W., Atmono, A., dan Wulandari, D. A. (2022). Pengaruh Variasi Waktu Terhadap Penurunan Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) pada Proses Bioremediasi Limbah Oli dengan Metode Biostimulasi. *Jurnal Lingkungan dan Sumberdaya Alam*. 5 (2) : 109-120.
- Welan, Y. S. L., Refli., dan Rony, S. M. (2019). Isolasi dan Uji Biodegradasi Bakteri Endogen Tanah Tumpahan Oli Bekas di Kota Kupang. *Jurnal Ilmu Biotropikal*. 16 (1) : 61-72.
- Wulandari, D., dan Purwaningsih, D. (2019). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik pada Umbi *Colocasia esculenta* L. Secara Morfologi, Biokimia, dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 6 (2) : 247-258.
- Wulandari, E. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Kultur Jaringan Bambu Jenis *Fargesia scabrida*. *Integrated Lab Journal*. 10 (2) : 99-107.
- Yolantika, H., Periadnadi, P., dan Nurmiati, N. (2015). Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif. *Jurnal Biologi UNAND*. 4 (3) : 153-157.

Yudono, B., dan Estuningsih, S. P. (2013). Bacteria Exploration Indigen as Microbial Enhance Oil Recovery (MEOR) in Old Wells (Abandon well) in PT Pertamina UBEP Lemons Muara Enim. *Proceeding of Seminar Nasional AvoER Ke-5*. 1 (1) : 254-259.

Zafira, Z. (2021). Bioremediasi sebagai Alternatif Pengembalian Fungsi Tanah yang Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Jaring SainTek*. 3 (2) : 67-74.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Medium

1. Pembuatan Medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS)

Ditimbang sebanyak 0,02 gram CaCl_2 , 0,2 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 gram K_2HPO_4 , 1 gram KH_2PO_4 , dan 1 gram NH_4NO_3 , serta 2 tetes 60% FeCl_3 . Kemudian, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan *aquadest* 1000 ml, lalu dipanaskan hingga mendidih diatas *hot plate*. Selanjutnya, larutan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* (Huyyirnah dan Rosmaniar, 2021).

2. Pembuatan Medium Zobell

Ditimbang sebanyak 5 gram pepton, 0,01 gram ekstrak ragi, 0,10 gram K_2HPO_4 , dan 0,10 gram KNO_3 . Lalu, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan *aquadest* 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga mendidih diatas *hot plate*. Selanjutnya, larutan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* (Huyyirnah dan Rosmaniar, 2021).

3. Pembuatan Medium Soeminarti

Ditimbang sebanyak 0,01 gram *yeast extract*, 0,01 gram K_2HPO_4 dan 0,01 gram KNO_3 . Kemudian, dilarutkan dalam 1000 ml *aquadest*. Lalu, dipanaskan dan diaduk sampai homogen (Gofar, 2011).

4. Pembuatan Medium *Nutrient Agar* (NA)

Medium *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 20 gram, lalu dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 1 liter dalam erlenmeyer 1000 ml, kemudian dimasak

sampai larut diatas *hot plate magnetic stirrer*. Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih ada gelembung didasar erlenmeyer, lalu alat dimatikan. Selanjutnya, erlenmeyer diangkat dan mulutnya ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan aluminium foil (Rosmania dan Yanti, 2020).

5. Pembuatan Medium *Nutrient Broth* (NB)

Medium *Nutrient Broth* (NB) ditimbang sebanyak 8 gram, lalu dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 1 liter dalam erlenmeyer 1000 ml, kemudian dimasak sampai larut diatas *hot plate magnetic stirrer*. Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih ada gelembung didasar erlenmeyer, lalu alat dimatikan. Selanjutnya, erlenmeyer diangkat dan mulutnya ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan aluminium foil (Rosmania dan Yanti, 2020).

6. Pembuatan Medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) ditimbang sebanyak 6,5 gram dan dilarutkan dalam 100 ml *aquadest*. Lalu, dipanaskan dan diaduk sampai homogen. Sebanyak 5 ml medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan pada posisi miring sampai memadat (Ismail *et al.*, 2017).

7. Pembuatan Medium *Sulphide Indole Motility* (SIM)

Medium *Sulphide Indole Motility* (SIM) ditimbang sebanyak 3,0 gram dan dilarutkan dalam 100 ml *aquadest*. Kemudian, dipanaskan dan diaduk sampai homogen. Sebanyak 5 ml medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan pada posisi tegak (Ismail *et al.*, 2017).

8. Pembuatan Medium *Methyl Red* dan *Voges Proskauer* (MR-VP)

Medium *Methyl Red* dan *Voges Proskauer* (MR-VP) ditimbang sebanyak 1,5 gram dan dilarutkan dalam 100 ml *aquadest*. Lalu, dipanaskan dan diaduk sampai homogen. Sebanyak 5 ml medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan pada posisi tegak (Ismail *et al.*, 2017).

9. Pembuatan Medium *Urea Broth*

Ditimbang sebanyak 1 gram pepton, 1 gram D-glukosa, 5 gram natrium klorida (NaCl), 2 gram potasium dihidrogenfosfat (KH₂PO₄), dan 0,012 gram *phenol red*. Kemudian dilarutkan dalam 950 ml *aquadest*. Lalu, dipanaskan dan diaduk sampai homogen (Ambarsari *et al.*, 2021).

10. Pembuatan Medium *Simmon's Citrate*

Medium *Simmon's Citrate* ditimbang sebanyak 1,5 gram, kemudian dimasukkan kedalam gelas beker yang sudah berisi 50 ml *aquadest*. Lalu, dipanaskan menggunakan *hot plate* dengan suhu 150°C selama 15 menit. Sebanyak 4 ml medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dimiringkan 45°C dan ketika sudah dingin dimasukkan kedalam kulkas bersuhu 3°C (Angraeni *et al.*, 2023).

11. Pembuatan Medium Agar Pati

Ditimbang sebanyak 5 gram pepton, 3 gram *beef extract*, 2 gram amilum, dan 15 gram agar. Kemudian, semua bahan dicampurkan sampai homogen dengan ditambahkan 1000 ml *aquadest* dalam penangas air dan dibiarkan hingga mendidih (Angraeni *et al.*, 2023).

12. Pembuatan Medium Gelatin

Ditimbang sebanyak 5 gram pepton, 3 gram *beef extract*, dan 120 gram gelatin. Lalu, semua bahan dicampurkan hingga homogen dengan ditambahkan 1000 ml *aquadest* dalam penangas air dan dibiarkan hingga mendidih (Angraeni *et al.*, 2023).

Lampiran 2. Pengambilan Sampel Rhizosfer

1. Pengambilan Sampel Rhizosfer *Paspalum* sp.



Gambar 1. Tumbuhan *Paspalum* sp. dan sampel rhizosfernya

2. Pengambilan Sampel Rhizosfer *Waltheria* sp.



Gambar 2. Tumbuhan *Waltheria* sp. dan sampel rhizosfernya

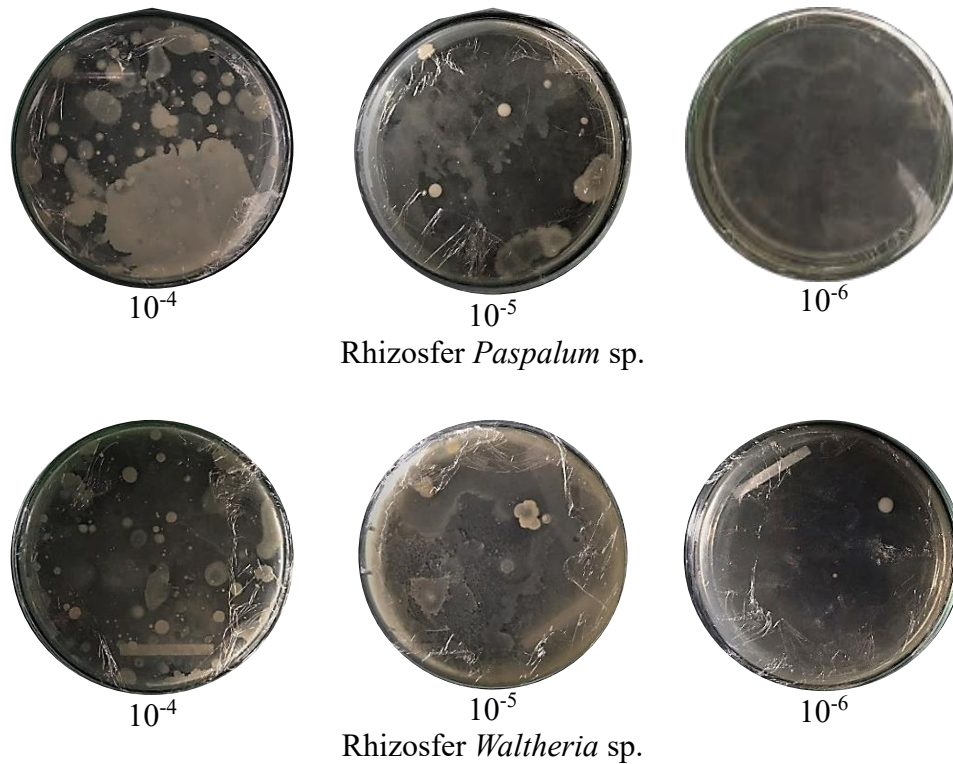
3. Pengukuran pH Tanah pada Rhizosfer *Paspalum* sp. dan *Waltheria* sp.

Tabel 1. Hasil pengukuran pH tanah pada rhizosfer *Paspalum* sp. dan *Waltheria* sp.

No.	Lokasi Sampling	Rhizosfer tumbuhan	pH
1.	A	<i>Paspalum</i> sp.	7
2.	B	<i>Waltheria</i> sp.	7

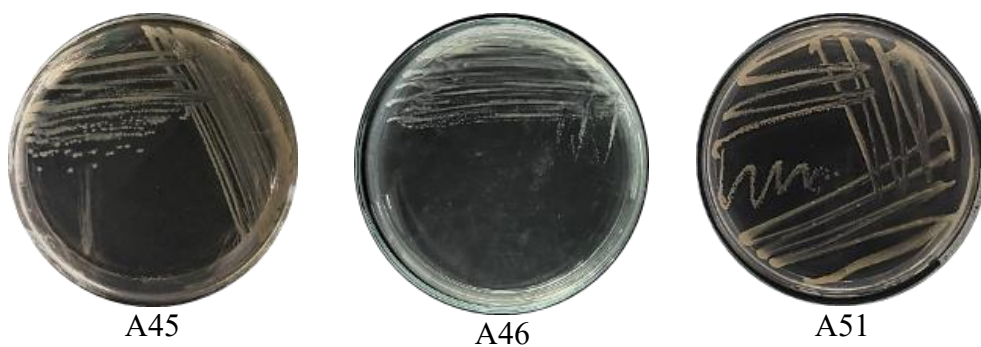
Lampiran 3. Hasil Isolasi dan Pemurnian

1. Isolasi Bakteri dari Rhizosfer Tumbuhan Tercemar Minyak Bumi



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri dari rhizosfer tumbuhan tercemar minyak bumi

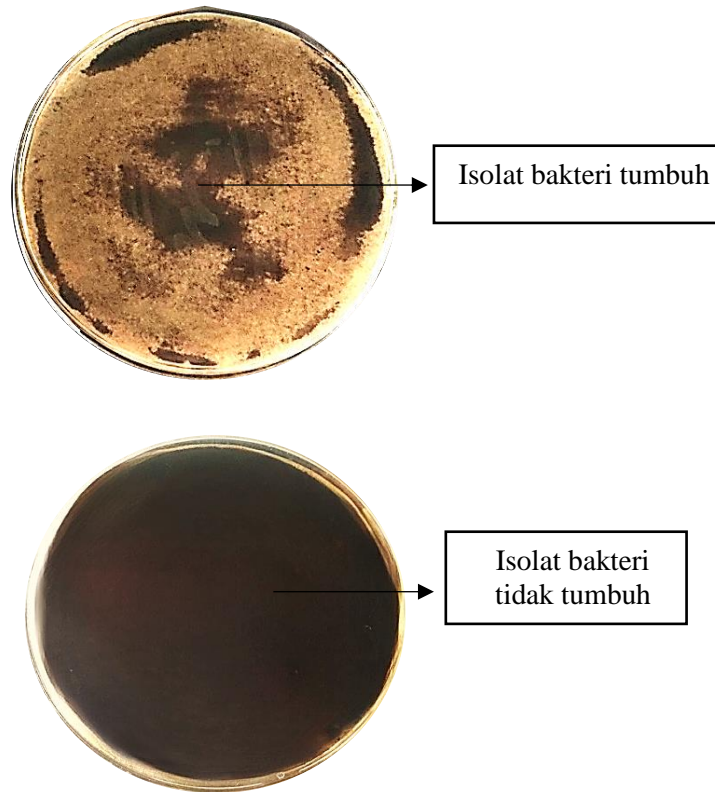
2. Pemurnian Bakteri dari Rhizosfer Tumbuhan Tercemar Minyak Bumi



Gambar 2. Hasil pemurnian bakteri dari rhizosfer tumbuhan tercemar minyak bumi

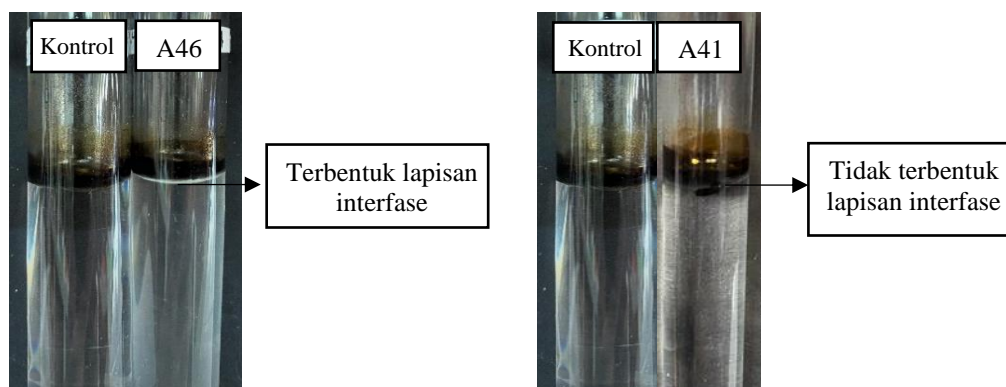
Lampiran 4. Hasil Seleksi Tahap I dan Seleksi Tahap II

1. Seleksi Tahap I



Gambar 1. Hasil seleksi tahap I bakteri dari dari rhizosfer tumbuhan tercemar minyak bumi

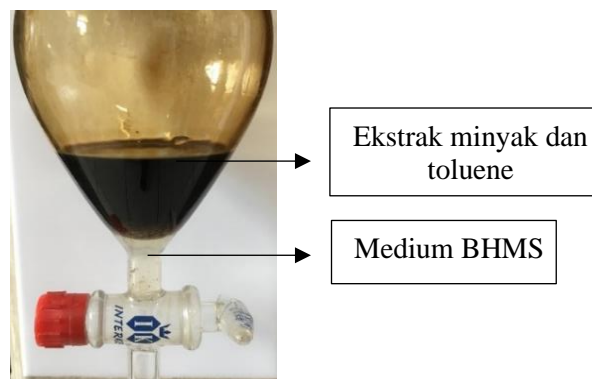
2. Seleksi Tahap II



Gambar 2. Hasil seleksi tahap II bakteri dari dari rhizosfer tumbuhan tercemar minyak bumi

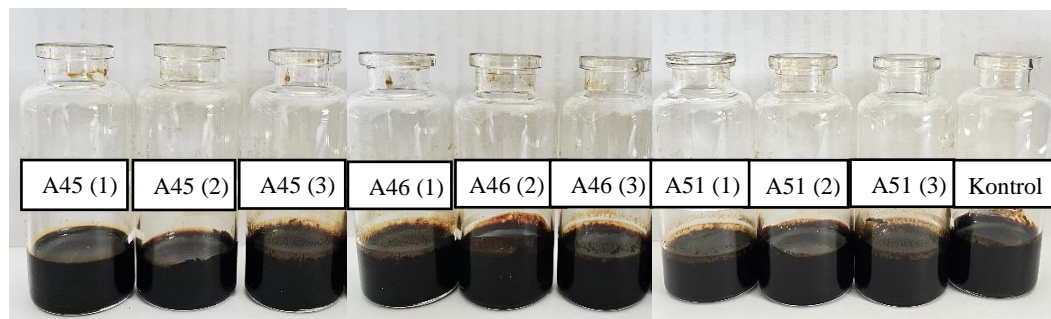
Lampiran 5. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon

1. Ekstraksi *Crude oil* dengan Toluene



Gambar 1. Ekstraksi *crude oil* dengan toluene

2. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon



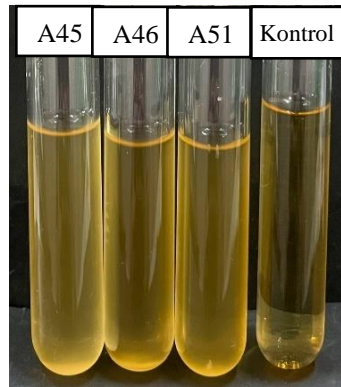
Gambar 2. Hasil uji kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik sebagai agen bioremediasi

Tabel 1. Pengukuran pH pada Hari ke-0 dan ke-14 Masa Inkubasi Degradasi

Kode Isolat	pH	
	Hari ke-0	Hari ke-14
Kontrol	6,5	6
A45	6,5	6
A46	6,5	6
A51	6,5	6

Lampiran 6. Hasil Karakteristik Bakteri Hidrokarbonoklastik

1. Morfologi Koloni Bakteri Hidrokarbonoklastik pada Medium NB



Gambar 1. Morfologi koloni bakteri hidrokarbonoklastik pada medium NA cair

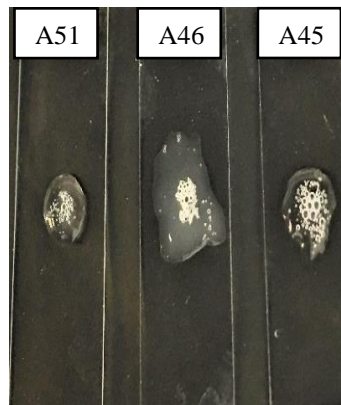
Keterangan gambar :

A45 : *Anaerob Fakultatif*

A46 : *Anaerob Fakultatif*

A51 : *Anaerob Fakultatif*

2. Uji Katalase Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 2. Uji katalase

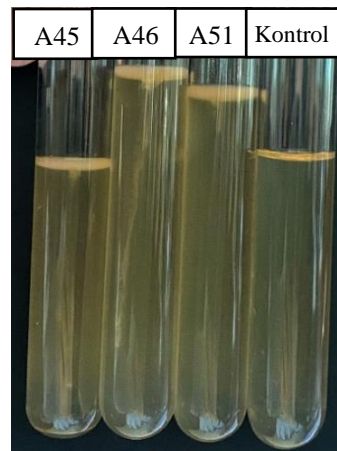
Keterangan gambar :

A51 : Positif (+) / ada gelembung

A46: Positif (+) / ada gelembung

A45 : Positif (+) / ada gelembung

3. Uji Motilitas Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 3. Uji motilitas

Keterangan gambar :

A45 : Positif (+)

A46 : Positif (+)

A51 : Negatif (-)

4. Uji Indol Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 4. Uji indol

Keterangan gambar :

A46 : Negatif (-)

A45 : Negatif (-)

A51 : Negatif (-)

5. Uji H₂S Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 5. Uji H₂S

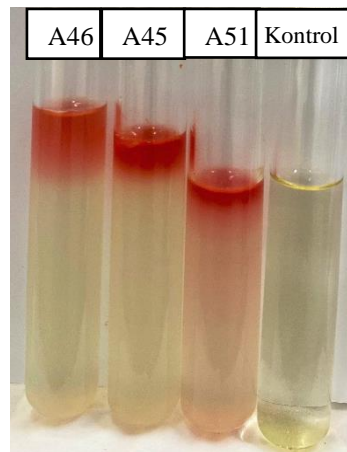
Keterangan gambar :

A45 : Negatif (-)

A46 : Negatif (-)

A51 : Negatif (-)

6. Uji Methyl Red Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 6. Uji methyl red

Keterangan gambar :

A46 : Positif (+)

A45 : Positif (+)

A51 : Positif (+)

7. Uji Simmon Sitrat Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 7. Uji simmon sitrat

Keterangan gambar :

A46: Positif (+)

A45 : Positif (+)

A51: Positif (+)

8. Uji Voges-Proskauer Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 8. Uji Voges-Proskauer

Keterangan gambar :

A46 : Positif (+)

A45 : Positif (+)

A51 : Positif (+)

9. Uji Fermentasi Gula Bakteri Hidrokarbonoklastik



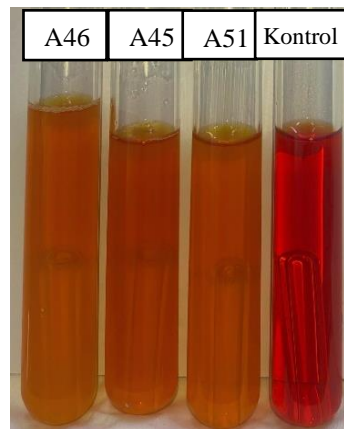
Gambar 9. Uji fermentasi gula (glukosa)

Keterangan gambar :

A46 : Positif (+) / tidak ada gas

A45 : Positif (+) / tidak ada gas

A51 : Positif (+) / tidak ada gas



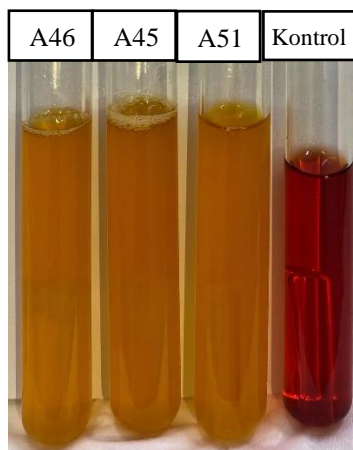
Gambar 10. Uji fermentasi gula (laktosa)

Keterangan gambar :

A46 : Positif (+) / tidak ada gas

A45 : Positif (+) / tidak ada gas

A51 : Positif (+) / tidak ada gas



Gambar 11. Uji fermentasi gula (sukrosa)

Keterangan gambar :

A46 : Positif (+) / tidak ada gas

A45 : Positif (+) / tidak ada gas

A51 : Positif (+) / tidak ada gas

10. Uji Hidrolisis Urea Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 12. Uji hidrolisis urea

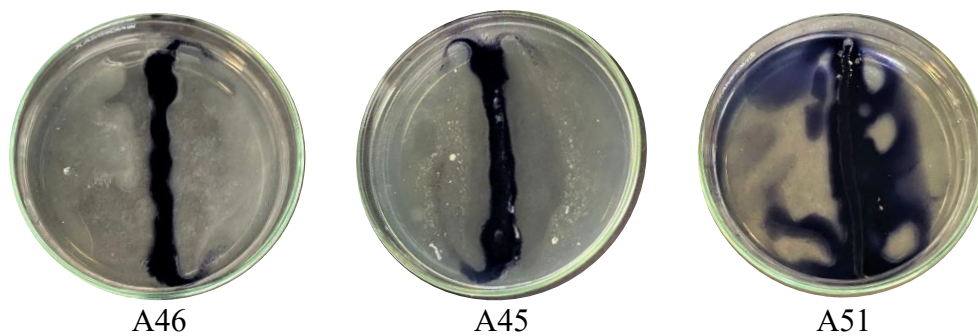
Keterangan gambar :

A46 : Negatif (-)

A45 : Negatif (-)

A51 : Negatif (-)

11. Uji Hidrolisis Urea Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 13. Uji hidrolisis pati

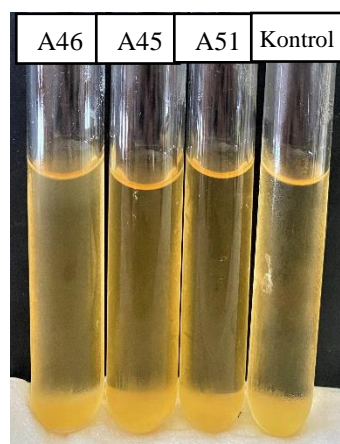
Keterangan gambar :

A46 : Negatif (-)

A45 : Negatif (-)

A51 : Negatif (-)

12. Uji Hidrolisis Gelatin Bakteri Hidrokarbonoklastik



Gambar 14. Uji hidrolisis gelatin

Keterangan gambar :

A46 : Negatif (-)

A45 : Negatif (-)

A51 : Negatif (-)

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Nyimas Luthpiah

NIM : 08041382025081

Tempat/Tanggal Lahir : Cinta Jaya/05 Juni 2002

Universitas/Fakultas/Jurusan : Universitas Sriwijaya/MIPA/Biologi

Bidang Ilmu Skripsi : Mikrobiologi

Alamat Rumah : Jl. Raden M. Nur, Dusun III, Desa Cinta Jaya,
Kec. Pedamaran, Kab. Ogan Komering Ilir,
Sumatera Selatan

No. HP : 085788537842

Email : nyimaslutpiah@gmail.com

Riwayat Pendidikan : SD Negeri 1 Cinta jaya (2008-2014)
SMP Negeri 1 Pedamaran (2014-2017)
SMA Negeri 1 Kayuagung (2017-2020)
Universitas Sriwijaya (2020-2024)

Organisasi :

1. Anggota Departemen Sosial dan Lingkungan (2021-2022)
HMB Universitas Sriwijaya
2. Anggota Departemen Eksternal COIN (2021-2022)
Universitas Sriwijaya

Pengalaman :

1. Kerja Praktik di Laboratorium Kimia dan Biologi (2023)
Bidang Laboratorium Forensik Polda Sumatera Selatan
2. Asisten Praktikum Mikrobiologi Lingkungan (2024)

